

VACCINATION
CONTRE LA MALADIE DE GUMBORO :
ESSAI CLINIQUE TERRAIN
DU BURSAMUNE@IN OVO

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2001
devant l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE*

par

Karine SELLAM
Née le 31 octobre 1971 à POITIERS (Vienne)

Directeur de thèse : M. le Docteur JOUGLAR

JURY

PRESIDENT :

M. CAMPISTRON

Professeur de l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

M. JOUGLAR

Maître de conférence de Pathologie des Oiseaux à l'Ecole
Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

M. BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire
de TOULOUSE

A Monsieur le Professeur CAMPISTRON

Professeur des Universités, praticien hospitalier en physiologie et hématologie,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A Monsieur le Docteur JOUGLAR

Maître de conférences de Pathologie des Oiseaux à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

qui m'a donné envie d'abandonner la voie classique de la "canine" pour l'aviculture et qui m'a soutenu dans ce travail.

A Monsieur le Professeur BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE

Professeur de Pathologie Générale, Microbiologie et Immunologie à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

qui a accepté de faire partie de notre jury de thèse et a eu la gentillesse de juger ce travail.

Sincères remerciements.

Aux Drs Poiron et De Villèle qui m'ont fait connaître et apprécier le monde rural.

Aux vétérinaires du Chêne Vert, Drs Robineau, Rossigneux, Léorat et Dudouyt, qui m'ont guidé dans le monde impitoyable de l'élevage de volaille et sans qui cette thèse n'existerait pas.

Aux Drs Roger-Allamigeon et Flori qui ont bien voulu corriger mes fautes de français et qui m'ont aidé par leur science vétérinaire à améliorer ce travail.

Au Dr Flochlay, mon précieux moniteur, grâce à qui j'ai réalisé cet essai clinique, et au laboratoire Fort Dodge Santé Animale qui m'a permis d'utiliser leurs résultats pour cette thèse.

A la société Embrex, qui apporte années après années des innovations technologiques à l'élevage avicole. Après la vaccination dans l'œuf, après les vaccins formés de complexe immuns, toute la profession attend avec impatience le sexage in ovo!

A mes parents, à Sarah, Julie, Benjamin et à ma grand-mère Rolande, merci pour votre soutien pendant mes trop longues années d'étude.

A Fred, avec qui j'ai fait un long chemin et qui m'a supporté pendant mes heures les plus sombres.

A mes amis, Tiphaine, Sandrine, Véronique, Lydia et tous les autres, j'espère que les années à venir seront aussi heureuses que celles passées ensemble.

A Jean le citadin qui s'amuse bien de me voir la journée en tenue de travail, blouse et bottes, et le soir en « salsa cubana ».

SOMMAIRE

<i>LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX</i>	11
<i>LISTE DES ANNEXES</i>	12
<i>ABREVIATIONS ET SYMBOLES</i>	13
<i>INTRODUCTION</i>	14
<u>Première partie</u>	15

LA VACCINATION IN OVO CONTRE LA MALADIE DE GUMBORO, ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. PRESENTATION DE LA MALADIE DE GUMBORO	16
---	-----------

1.1. DEFINITION	16
1.2. HISTORIQUE	16
1.2.1. Au niveau mondial	16
1.2.2. En Europe	17
1.2.3. Importance économique de l'IBD	17
1.3. ETIOLOGIE	18
1.3.1. Sérotypes et pouvoirs pathogènes	18
1.3.1.1. Sérotype I.....	18
1.3.1.2. Sérotype II.....	19
1.3.2. Résistance	19

1.4. PATHOGENIE ET EPIDEMIOLOGIE	
.....	20
1.4.1. Réceptivité	20
1.4.1.1. Liée à l'animal
.....	20
1.4.1.2. Liée au milieu
.....	20
1.4.2. Transmission de l'infection
.....	20
1.4.3. Pathogénie	21
1.5. IMMUNODEPRESSION
.....	21
1.6. DEVELOPPEMENT DES LESIONS ET SYMPTOMES	21
1.6.1. Lésions
.....	21
1.6.1.1. Lésions macroscopiques
.....	21
1.6.1.2. Lésions microscopiques
.....	22
1.6.1.3. Microscopie électronique
.....	23
1.6.2. Symptômes	23
1.7. DIAGNOSTIC	24
1.7.1. Diagnostic clinique et nécropsique
.....	24
1.7.2. Diagnostic virologique	24
1.7.3. Diagnostic sérologique	25
1.7.4. Diagnostic histologique	25
1.8. TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE SANITAIRE	25

2. LA VACCINATION CONTRE LA MALADIE DE GUMBORO	26
---	-----------

2.1. LA MISE AU POINT DES VACCINS	26
2.1.1. La fabrication des vaccins	26
2.1.2. L'évaluation des souches vaccinales	27
2.2. CLASSIFICATION DES VACCINS	28
2.2.1. Les vaccins vivants atténués	28
2.2.2. Les vaccins inactivés	29
2.2.3. Les vaccins à venir	30
2.3. CHOIX DE LA DATE DE VACCINATION	31
2.4. LES VOIES TRADITIONNELLES D'ADMINISTRATION DES VACCINS	32
2.4.1. Vaccination individuelle	32
2.4.2. Vaccination de masse	33

3. LA VACCINATION <i>IN OVO</i> CONTRE LA MALADIE DE GUMBORO	34
---	-----------

3.1. L'INJECTION <i>IN OVO</i> : VACCINATION INDIVIDUELLE ET DE MASSE	34
3.1.1. Présentation de l'injection <i>in ovo</i>	34
3.1.2. Historique et importance d'Inovoject®	34
3.1.3. Fonctionnement d'une machine à injecter les œufs : Inovoject®	35
3.1.4. Le choix de la date d'injection <i>in ovo</i>	36
3.1.5. Contraintes sanitaires	36
3.1.6. Le site d'injection <i>in ovo</i>	37

3.2. LES VACCINS *IN OVO* CONTRE LA MALADIE DE GUMBORO.....**38****3.2.1. IBDV complexé avec des anticorps anti-IBDV 38****3.2.2. Mode d'action du complexe virus/anticorps anti-IBDV 38**

2^{ème} PARTIE :	40
---------------------------------	-----------

**ESSAI CLINIQUE EN FRANCE :
EFFICACITE ET INNOCUITE D'UN VACCIN IBD ADMINISTRE *IN OVO***

1. MATERIEL ET METHODES	41
1.1. MATERIEL	41
1.1.1. Animaux	41
1.1.2. Elevages	43
1.1.2.1. Classification des sites selon la forme d'IBD	43
1.1.2.2. Critères d'inclusion des sites	43
1.1.2.3. Sites sélectionnés	43
1.1.2.4. Bâtiments	44
1.1.3. Vaccins testés	44
1.1.3.1. Bursamune® <i>in ovo</i>	44
1.1.3.2. Vaccins des groupes témoins	44
1.1.4. Sérologie	45
1.1.5. Appareils	45
1.1.5.1. Description de la machine à injecter les œufs INOVOJECT®	45
1.1.5.2. Balances	45
1.2. PLAN EXPERIMENTAL	46
1.2.1. Modèle de l'essai	46
1.2.2. Traitements des animaux	46
1.2.3. Etapes et enregistrements réalisés	46
1.2.3.1. Par l'éleveur	46
1.2.3.2. Par l'investigateur	47

1.3. METHODES	47
1.3.1. Randomisation – Utilisation des techniques « aveugle »	47
1.3.2. Administration des vaccins	48
1.3.3. Evaluation de l'efficacité et de l'innocuité	49
1.3.3.1. Définition des critères d'efficacité et d'innocuité.....	49
1.3.3.2. Source et méthode d'infection.....	
.....	50
1.3.3.3. Mesure et enregistrement des critères d'efficacité et d'innocuité	50
1.3.4. Statistiques	55

2. RESULTATS	56
---------------------------	-----------

2.1. EFFICACITE	56
2.1.1. Rapport poids de la bourse de Fabricius sur poids du corps (BBR)	56
2.1.2. Sérologie	58
2.2. INNOCUITE	
.....	61
2.2.1. Eclosabilité	61
2.2.2. Examen macroscopique de la bourse de Fabricius	61
2.2.3. Viabilité	63
2.2.4. Paramètres zootechniques	65

3. DISCUSSION	68
----------------------------	-----------

3.1. DISCUSSION DES MATERIELS ET METHODES	
.....	68
3.1.1. Sélection des parquets de reproducteurs	68
3.1.2. Critères d'évaluation de l'efficacité et de l'innocuité	68
3.2. DISCUSSION DES RESULTATS	
.....	69
3.2.1. Efficacité	69

3.2.2. Innocuité	71
3.2.2.1. Eclosabilité.....	71
3.2.2.2. Examen macroscopique de la bourse de Fabricius	72
3.2.2.3. Viabilité.....	73
3.2.2.4. Performances zootechniques.....	73
<i>CONCLUSION</i>	75
<i>BIBLIOGRAPHIE</i>	76
<i>ANNEXES</i>	83
<i>RESUME</i>	104

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

FIGURES

Figure 1 :	Moyenne arithmétique des rapports poids de la bourse de Fabricius sur poids du corps par groupe de traitement.....	57
Figure 2 :	Moyenne arithmétique des titres en anticorps IBD par groupe de traitement.....	60

TABLEAUX

Tableau I :	Présentation des sites.....	42
Tableau II :	Rapport poids de la bourse de Fabricius sur poids du corps (Bursal Body Ratio) par site.....	56
Tableau III :	Moyennes arithmétiques des titres sérologiques IBD par site.....	58
Tableau IV :	Observations macroscopiques de la bourse de Fabricius.....	61
Tableau V :	Viabilité.....	63
Tableau VI :	Mortalité hebdomadaire et résultats techniques des groupes de traitement.....	64
Tableau VII :	Résultats techniques de l'abattoir par site.....	65
Tableau VIII :	Poids corporels vifs des animaux euthanasiés.....	66
Tableau IX :	Poids corporels vifs des animaux dans les élevages.....	67

LISTE DES ANNEXES

Annexe A :	Programme de vaccination des reproducteurs.....	83
Annexe B :	Fiches techniques des vaccins du groupe témoin.....	84
Annexe C :	Fiche technique de l' INOVOJECT®.....	89
Annexe D :	Tableaux 1 à 10, Titres sérologiques à 1 jour, 3, 4, 5 semaines et abattage par Site.....	93

ABREVIATIONS ET SYMBOLES

Ac :	Anticorps
AcM :	Anticorps d'origine maternelle
ARN :	Acide RiboNucléique
BI :	Bronchite Infectieuse
BBR :	Bursal Body Ratio
BDA :	Bursal Disease Antiserum
E.L.I.S.A :	Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay
FDC :	Cellule Folliculaire Dendritique
GMQ :	Gain Moyen Quotidien
HVT :	Herpes Virus Turkey
IBD :	Infectious Bursal Disease
IBDV :	Infectious Bursal Disease Virus
IBDV-Icx :	IBDV complexé à un anticorps
IC :	Indice de consommation
IDG :	Immuno Diffusion sur Gélose
<i>In Ovo</i> :	dans l'oeuf
m :	moyenne
ND :	maladie de Newcastle
PCR :	Polymerase Chain Reaction
RT-PCR :	R T Polymerase Chain Reaction
SPF :	Specific Pathogen Free
VNF® :	Virus Neutralising Factor
vvIBDV :	very virulent Infectious Bursal Disease Virus
σ :	écart type

INTRODUCTION

La maladie de Gumboro est une infection virale contagieuse des volailles dont le virus a un tropisme particulier pour les tissus lymphoïdes de la bourse de Fabricius. La maladie existe sous deux formes, aiguë et subclinique. Elle entraîne des pertes économiques directes ou indirectes. La prophylaxie médicale est basée sur une immunisation des reproductrices avec un vaccin inactivé qui fournit une immunité passive pendant les premières semaines de vie des poulets de chair. Cette immunité passive d'origine maternelle est ensuite relayée par une immunité active avec un vaccin vivant atténué distribué dans l'eau de boisson. La réussite de cette vaccination dépend donc du choix de la souche vaccinale, de la date et de la technique de vaccination.

Après avoir décrit la maladie de Gumboro et les principes de la vaccination traditionnelle, nous verrons qu'il existe une nouvelle technique de vaccination *in ovo*. En effet, le laboratoire Fort Dodge Santé Animale et la société Embrex, ont mis au point un vaccin composé d'un complexe virus-anticorps qui peut être injecté à des embryons de poulets de 18 jours d'incubation. La vaccination *in ovo* utilisant une machine automatique, Inovoject®, offre la possibilité de vacciner de façon individuelle et en grande quantité des poulets de chair quelque soit leur statut immunitaire. Le rapport d'un essai clinique réalisé en Bretagne en 1998 dans le cadre d'un dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché du vaccin Bursamune *in ovo*® de Fort Dodge Santé Animale est exposé dans la deuxième partie.

Première partie :

**LA VACCINATION CONTRE LA MALADIE DE
GUMBORO, ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

1. PRESENTATION DE LA MALADIE DE GUMBORO

1.1. DEFINITION

La maladie de Gumboro est une affection virale contagieuse due à la multiplication chez les oiseaux de l'espèce Gallus quasi exclusivement, d'un Birnavirus dans différents organes et surtout les organes lymphoïdes primaires, spécialement la bourse de Fabricius. La maladie de Gumboro existe classiquement sous deux formes :

- une forme aiguë (clinique), où la morbidité, la mortalité et les lésions macroscopiques sont dues à l'action directe du virus.
- une forme subclinique responsable d'une immunodépression que l'on rattache aux lésions induites par le virus sur la bourse de Fabricius.

Elle est aussi appelée Infectious Bursal Disease (IBD) ou Bursite Infectieuse.

1.2. HISTORIQUE

1.2.1. Au niveau mondial

L'IBD, a été décrite pour la première fois aux Etats-Unis, près du village de Gumboro, dans le Delaware, par Cosgrove, en 1962 (7). Winterfield et Hitchner ont isolé deux virus, l'un des reins et l'autre de la bourse de Fabricius, de poulets atteints de cette nouvelle affection. Ils ont démontré que le virus isolé de la bourse de Fabricius est seul responsable des lésions induites dans cet organe (29). L'appellation maladie de Gumboro est depuis réservée à l'affection virale caractérisée par la dégénérescence et la nécrose des cellules lymphoïdes de la bourse de Fabricius.

L'IBD est actuellement mondialement répandue, elle existe dans tous les pays que l'élevage avicole soit intensif ou non.

1.2.2. En Europe

L'IBD est apparue en Europe sous sa forme clinique en 1975. La maladie s'est rapidement étendue et le nombre de cas confirmés par sérologie était croissant.

Par la suite sont apparues les formes subcliniques s'accompagnant de pertes directes atténuées, bien souvent caractérisées par le polymorphisme de leurs conséquences : complications bactériennes, virales et parasitaires. On peut attribuer le passage des formes aiguës vers des formes subaiguës à une meilleure protection des poussins : protection passive transmise par des reproductrices contaminées par le virus sauvage ou immunisées par des vaccins vivants inactivés et amélioration des conditions d'hygiène (46).

Jusqu'en 1986, les souches virales étaient peu pathogènes et causaient moins de 1 % de mortalité spécifique. Fin avril 1987, des formes graves d'IBD dues à des souches virales très pathogènes (very virulent IBDV - vvIBDV) sont apparues dans le sud des Pays Bas et en Belgique. Depuis, l'infection par des souches très pathogènes s'est propagée à l'ensemble des pays gros producteurs de volaille excepté l'Amérique du Nord.

1.2.3. Importance économique de l'IBD

Les pertes économiques peuvent être directement liées à la mortalité pour les souches hypervirulentes d'IBD ou indirectement causées par les effets immunodépresseurs du virus (1, 20 et 44). En effet, les poulettes et les poulets de chair peuvent ne pas répondre à des vaccins contre la maladie de Newcastle (11), la maladie de Marek (14) et la Bronchite Infectieuse (45 et 57). Chez les poulets de chair, l'immunosuppression est marquée par une forte prévalence des infections respiratoires virales et l'élévation de la mortalité à cause de colisepticémies pendant la phase terminale d'engraissement (40).

McIlroy (35 et 36) a montré que les lots de poulets sans IBD faisait un bénéfice supérieur de 11% par rapport aux lots avec un passage d'IBD aiguë et 14% par rapport aux lots avec des un passage d'IBD subclinique. La réduction du bénéfice des parquets infectés par l'IBD subclinique a été attribuée à une diminution relative du poids du corps et une augmentation de l'indice de consommation mais sans variation de la mortalité.

1.3. ETIOLOGIE

Le virus responsable (Infectious Bursal Disease Virus, IBDV), classé dans la famille des Birnaviridae, est très stable, non enveloppé, icosaédrique d'un diamètre de 60 nm au microscope électronique. Il est composé d'un double brin d'ARN (41), entouré d'une capsule protéique.

1.3.1. Sérotypes et pouvoirs pathogènes

L'antigène de groupe peut être mis en évidence par précipitation en milieu gélifié, par immunofluorescence et par test ELISA.

Les variations antigéniques sont classées en deux sérotypes majeurs par neutralisation. D'autres variations antigéniques peuvent être démontrées dans chacun de ces sérotypes grâce aux anticorps monoclonaux.

1.3.1.1. Sérotype I (standard)

- Aux Etats-Unis, le sérotype I comprend plusieurs souches. Ces souches possèdent des épitopes qui diffèrent entre souches « classiques » et « variantes » (23 et 50).

Jackwood et Saif (24) ont divisé le sérotype I en 6 sous-types en utilisant le test de neutralisation croisée des virus. Cette différence antigénique est associée à une différence de pathogénicité : les souches variantes sont plus pathogènes, elles induisent une atrophie rapide de la bourse et une immunodépression sans entraîner de phase inflammatoire comme avec la souche standard classique de l'IBDV. Cette dérive génétique est très étudiée car il n'y a pas de protection croisée satisfaisante entre les souches classiques et variantes (13). Ces variants apparaissent spontanément par mutation sur des épitopes de la protéine structurale VP2 responsable in vivo de l'induction d'anticorps neutralisants. Les vaccins destinés à l'élevage américain sont donc régulièrement adaptés au variant dominant le terrain.

- En Europe, Amérique Latine, Asie du Sud-Est, Afrique et Moyen-Orient la situation est différente. Aucune souche variante n'a été isolée. Cependant, une souche hypervirulente (vvIBDV) très proche antigéniquement de la souche standard, se traduisant par une mortalité supérieure à celle induite par les souches classiques, est apparue en 1987. Ces souches sont donc plus définies par un pathotype particulier que par une spécificité antigénique.

Le Dr Eterradossi en 1997, au CNEVA de Ploufragan, a mis en évidence des épitopes qui permettent de différencier par Ac-ELISA les vvIBDV européennes de la souche de référence Faragher 52/70. Ces vvIBDV semblent génétiquement très stables et identiques dans les différents pays concernés (42). Ces souches hypervirulentes restent actives malgré des titres en anticorps maternels forts.

1.3.1.2. Sérotype II

Ce sérotype a été isolé du dindon chez lequel il ne provoque qu'une infection subclinique inapparente qui serait quand même immunosuppressive (34).

Les 2 sérotypes peuvent infecter aussi bien les poulets que les dindons.

1.3.2. Résistance

Le virus de la bursite infectieuse est très résistant (3 et 4) aux agents chimiques et physiques (il persiste au moins 4 mois dans l'environnement).

- Résistance aux agents physiques :

Il résiste à un pH compris entre 2 et 12 et à une température de 56°C pendant 5 heures. Il est tué à 70°C en 30 min

- Résistance aux agents chimiques :

Il résiste à beaucoup de désinfectants usuels. Un temps de contact de 60 min est nécessaire pour assurer une inactivation correcte avec les différents désinfectants. Par exemple, le Formol est actif à 20°C en l'absence de matière organique mais à 4°C son activité est fortement diminuée.

La prophylaxie sanitaire usuelle, et notamment la désinfection des bâtiments d'élevage, n'est donc pas suffisante pour contrôler la maladie sur le terrain.

1.4. PATHOGENIE ET EPIDEMIOLOGIE

1.4.1. Réceptivité

1.4.1.1. Liée à l'animal

- L'espèce

La maladie se rencontre surtout dans le genre *Gallus*. Les souches de poules à plumage rouge (poulettes futures pondeuses et labels) semblent nettement plus sensibles à l'IBD que les souches blanches.

On a décrit la maladie chez le faisán. Le canard et le dindon développent des formes subcliniques. La caille et le pigeon semblent résistants à l'infection expérimentale

- L'âge

L'âge est un facteur important dans l'infection naturelle à l'IBD.

Dans les 3 premières semaines de vie, l'infection précoce provoque une infection subclinique moins grave mais une immunodépression sévère, les pertes économiques peuvent être considérables. Les 4^e et 5^e semaines de vie représentent l'âge de la plus grande sensibilité au virus (31) et il se développe alors des formes aiguës de l'IBD. On peut expliquer la plus grande sensibilité des poulets de plus de 3 semaines (14) par le fait qu'ils ont plus de cellules cibles (lymphocytes B) dans la bourse de Fabricius pour la réplication virale.

1.4.1.2. Liée au milieu

Tout ce qui favorise la dissémination et la pérennité du virus, tous les facteurs de stress interviennent sur la réceptivité.

1.4.2. Transmission de l'infection

La maladie de Gumboro est contagieuse. Il n'existe pas de transmission verticale par l'œuf, la résistance du virus à la chaleur et aux désinfectants suffit pour expliquer sa persistance dans les élevages (transmission via des objets inanimés ou animés : eau, équipements, homme, poussières, environnement contaminé). Dans les conditions naturelles, la contamination des animaux s'effectue par voie orale.

Les virus sauvages et vaccinaux sont très résistants et peuvent persister dans un bâtiment de bandes en bandes (32).

1.4.3. Pathogénie

Après la contamination par voie orale, le virus est absorbé par les macrophages dans le tube digestif et il passe dans les cellules hépatiques de Kupffer. Puis la virémie primaire entraîne la contamination de tout l'organisme avec un tropisme marqué pour la bourse de Fabricius. Le virus se multiplie dans la bourse dès 11 h après la contamination et il se produit alors une virémie secondaire (53).

1.5. IMMUNODEPRESSION

La bourse de Fabricius est l'organe cible de l'IBDV. Le virus détruit les lymphocytes B qui se développent dans la bourse de Fabricius ce qui entraîne la diminution du pool de lymphocyte B circulant (6 et 19). Cela se traduit par une suppression de la réponse immunitaire de type humorale. Cette diminution de l'immunité humorale a 2 conséquences :

- Une mauvaise prise vaccinale
- Une plus grande sensibilité des troupeaux à de nombreuses affections telles que la coccidiose, la colibacillose, salmonellose (58) ou la Bronchite Infectieuse.

1.6. DEVELOPPEMENT DES LESIONS ET SYMPTOMES

1.6.1. Lésions

1.6.1.1. Lésions macroscopiques

•Dans la forme aiguë, les lésions macroscopiques sont intenses et sont décelables au moment du pic de mortalité :

- Les animaux sont extrêmement déshydratés voir cachectiques, ce qui peut entraîner une coloration foncée des muscles pectoraux et une néphrose uratique.
- Des pétéchies existent sur les muscles du bréchet et à l'intérieure des cuisses. On observe également des suffusions hémorragiques sur la paroi interne du ventricule.
- Les reins sont très souvent jaunes et très hypertrophiés.

- La bourse de Fabricius au 3^e jour de l'infection, est œdémateuse, hyperhémisée et augmentée de poids et de volume (49). Sa surface peut être couverte d'un œdème gélatineux jaunâtre et parfois présenter des pétéchies ou même être entièrement hémorragique (8). Au 4^e jour, les lésions s'intensifient. La bourse de Fabricius a doublé ou triplé de volume. A l'ouverture, la bourse de Fabricius est parfois hémorragique ou remplie d'un caséum blanchâtre résultant de la nécrose des follicules. Au 5^e jour, les lésions inflammatoires régressent, la bourse de Fabricius diminue de volume puis elle commence à s'atrophier. A partir du 8^e jour, son poids est réduit de 1/3 à 1/6 du poids normal.

- Dans les formes subcliniques les seules lésions visibles concernent la bourse de Fabricius dont le volume est augmenté dans la phase initiale puis diminué. Cependant, ce critère est difficile à apprécier lors de l'autopsie et son objectivation nécessite de comparer le rapport masse de la bourse de Fabricius sur poids vif de l'animal entre un sujet sain et le sujet autopsié.

1.6.1.2. Lésions microscopiques

- De la bourse de Fabricius :

Les lésions histologiques apparaissent 48 h après l'inoculation et consistent en une dégénérescence et nécrose des lymphocytes de la médulla puis de la zone corticale des follicules bursiques (6). Il s'ensuit une réaction inflammatoire avec œdème, hyperhémie et infiltration de cellules inflammatoires, d'où hypertrophie marquée de la bourse de Fabricius dès le 3^e jour de l'infection. La réaction inflammatoire disparaît, laissant place à des vacuoles kystiques dans la zone médullaire. On note aussi une hypertrophie du tissu conjonctif interfolliculaire. La bourse de Fabricius s'atrophie progressivement jusqu'au 8^e jour. En fin d'évolution on observe une atrophie des follicules, certains restant kystiques.

La réversibilité des lésions histologiques de la bourse de Fabricius dépend de l'importance de la destruction du système réticulo-histiocytaire. Chez les poussins inoculés à l'âge de 1 jour, tous les follicules sont atteints. Par contre, chez les poussins infectés à l'âge de 3 semaines, si tous les follicules ne sont pas atteints au 6^e jour, on peut remarquer un repeuplement lymphocytaire dans les 15 jours qui suivent.

- De la rate :

Elle peut présenter des point de nécrose des follicules lymphocytaires. (12)

- De la glande de Harder :

D'importantes lésions ont été observées chez le poussin inoculé à l'âge d'un jour. Lorsque le poussin vieillit, la glande de Harder se peuple de plasmocytes. L'infection par l'IBDV prévient cette infiltration. Jusqu'à l'âge de 7 semaines, la population en plasmocytes de la glande de Harder chez le poussin inoculé est 5 à 10 fois plus pauvre que celle des animaux témoins.

- Du rein :

Il n'y a pas de lésion spécifique autre que les lésions dues à la déshydratation sévère des poussins malades.

1.6.1.3. Microscopie électronique

Le centre des follicules est occupé par une trame de cellules reliées entre elles par des desmosomes. Dans le cytoplasme de ces cellules, des virus sont disposés en structures paracrystallines. Il y a beaucoup de débris cellulaires au milieu desquels on reconnaît des groupes de particules virales.

1.6.2. Symptômes

Dans les cas les plus nombreux, l'IBD est subclinique et il n'y a pas ou peu de symptômes visibles. Dans le cas d'IBD aiguë la période d'incubation est courte, 2 à 3 jours. Les plumes autour de l'anus sont souillées par des fientes diarrhéiques aqueuses. Des caillots de sang peuvent être présents dans les excréments. Les animaux sont abattus, prostrés, en boule, déshydratés et les plumes ébouriffées. La morbidité est élevée, pouvant atteindre 50 à 100 % pour les souches très pathogènes. La mortalité débute au 3^e jour de l'infection, atteint un pic puis diminue rapidement et les poussins retrouvent un état de santé apparent après 5 à 7 jours (8 et 29).

1.7. DIAGNOSTIC

1.7.1. Diagnostic clinique et nécropsique

- Dans la forme aiguë de l'IBD, le diagnostic est basé sur l'évolution de la maladie, mortalité en pic puis guérison clinique après 5 à 7 jours, ainsi que sur les lésions caractéristiques de la bourse de Fabricius lors de l'autopsie.

- Le diagnostic de l'infection subclinique est plus délicat et est à vérifier a posteriori après une baisse des performances du lot : quand l'Indice de Consommation (IC) est augmenté, l'éleveur peut garder 20 poulets après l'abattage du lot afin d'effectuer une cinétique d'anticorps (prise de sang au moment de l'abattage puis 2 semaines après).

1.7.2. Diagnostic virologique

- Isolement du virus

Il s'effectue par inoculation de broyats de bourse de Fabricius de poussins malades à des œufs embryonnés de poules SPF sur la membrane chorioallantoïdienne (21). Plusieurs passages aveugles sont souvent nécessaires pour obtenir les premières mortalités des embryons. L'adaptation de nombreuses souches d'IBDV à se multiplier sur cultures de cellules d'embryons de poule est fastidieuse (technique lourde qui n'est pas utilisée en routine).

- Mise en évidence de l'antigène viral dans la bourse de Fabricius par IDG (2) contre un sérum positif de référence ou par capture antigénique révélée par ELISA. L'utilisation d'anticorps monoclonaux permet la caractérisation antigénique (51).

- Mise en évidence du génôme viral dans la bourse de Fabricius par rétrotranscription puis amplification par PCR de l'ARN viral (RT-PCR). On peut établir des profils de restriction des fragments amplifiés pour caractériser le virus en cause.

1.7.3. Diagnostic sérologique

Les anticorps spécifiques anti-IBDV peuvent être mis en évidence et titrés par précipitation en milieu gélifié, par séroneutralisation ou par le test ELISA (37). Box en 1988 (5) a comparé la sensibilité et la spécificité de ces 3 techniques. Il est nécessaire de diluer les échantillons avec la technique ELISA à 1/5000 pour mesurer les taux d'anticorps supérieurs à 5 000 unités idexx (28). Avec des dilutions adéquates, il y a une bonne correspondance entre les résultats ELISA et les autres techniques (la précipitation en milieu gélifié est la moins sensible et la séro-neutralisation est la plus sensible) (54). La technique ELISA a été adaptée pour la sérologie IBD et représente une technique rapide, quantifiable, sensible et reproductible, pouvant être automatisée.

La sérologie est utilisée dans 3 cas principaux :

- Cinétique d'anticorps sur les lots de poulets de chair pour confirmer un passage d'IBD.
- Contrôle des anticorps des reproductrices en ponte.
- Calcul de la date de vaccination

1.7.4. Diagnostic histologique

Recherche des lésions des organes lymphoïdes.

1.8. TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE SANITAIRE

Il n'existe aucun traitement étiologique.

Etant donné la résistance de l'IBDV aux agents physiques et chimiques et sa longévité dans une litière souillée par des poussins infectés, un vide sanitaire poussé entre 2 lots d'animaux est indispensable. Le local et le matériel doivent être nettoyés et désinfectés en suivant rigoureusement le protocole de désinfection. La maladie sous sa forme aiguë a démontré que la persistance du virus dans un bâtiment était extraordinairement difficile à combattre avec des moyens classiques de désinfection même avec des protocoles rigoureux. On peut estimer que cela est également vrai pour les virus responsables de la forme subclinique mais l'objectivation de leur persistance d'une bande sur l'autre est moins évidente que pour les formes aiguës où la mortalité s'observe directement.

Cette difficulté extrême de décontamination, dans les conditions habituelles de production (aussi bien en industriel qu'en label), impose une prophylaxie médicale généralisée.

2. LA VACCINATION CONTRE LA MALADIE DE GUMBORO

La prophylaxie médicale de la maladie de Gumboro est basée d'une part sur l'immunisation des reproductrices afin qu'elles transmettent une immunité passive à leur progéniture et d'autre part d'une vaccination des poussins permettant une stimulation active de leur immunité. Il existe deux difficultés avant d'établir un plan de vaccination contre l'IBD pour les poulets de chair. La première difficulté est de choisir la souche vaccinale –et donc sa virulence- en fonction du statut sanitaire de chaque élevage face à l'IBD lors des derniers lots. La seconde difficulté est de choisir une date de vaccination qui évite une rupture entre la protection passive maternelle et la protection active vaccinale.

2.1. LA MISE AU POINT DES VACCINS

Les biologistes, utilisant des souches virales sauvages isolées à partir de bourse de Fabricius, ont cultivé l'IBDV sur différents milieux (œufs embryonnés ou cultures cellulaires) avec un nombre variable de passages. L'objectif est de produire des souches vaccinales de virulence plus ou moins atténuée puis de tester leur impact sur les poulets.

2.1.1. La fabrication des vaccins

Le premier essai de contrôle de la maladie a été exposé par Edgar en 1966 (9). Il proposait de réaliser une infection précoce des poussins en les mettant en contact avec de la litière, du matériel ou des poulets contaminés. Puis, Edgar a développé le premier vaccin vivant contre l'IBD à partir d'un homogénat de bourse de Fabricius cultivé sur embryons. La souche d'Edgar a ensuite été atténuée par passage sur cultures cellulaires par le Dr Lukert à l'université de Georgie USA. Cette souche très atténuée appelée souche de Lukert est utilisée pour beaucoup de vaccin de virulence modérée. Actuellement, des versions moins atténuée de la souche de Lukert sont à l'origine de vaccins intermédiaires. D'autres vaccins sont produits à partir de la souche de Moulthrop. Cette souche virulente est passée sur embryon pour devenir intermédiaire plus ou intermédiaire.

Les souches sauvages sont cultivées sur œufs embryonnés, sur fibroblastes (15), sur cellules de la bourse de Fabricius, de reins et cellules V.E.R.O. (32).

2.1.2. L'évaluation des souches vaccinales

L'évaluation du pouvoir immunogène et pathogène des virus vaccinaux est essentielle avant leur utilisation sur le terrain.

Afin de compléter les travaux de Winterfield (56), Mazariegos (33) et Guittet (16) ont comparé la virulence de huit vaccins intermédiaires. Deux facteurs sont étudiés : impact de la vaccination sur la bourse de Fabricius (calcul du rapport poids de la bourse de Fabricius sur poids du corps Bursal Body Ratio et histopathologie) et immunodépression (vaccination ND suivie d'une épreuve virulente avec mesure de la morbidité, mortalité et sérologie). Les vaccins doivent répondre à des exigences minimales qui sont : lésions histologiques de la bourse de Fabricius modérées et transitoires, BBR diminué temporairement sans excéder deux fois la valeur du lot témoin non traité et l'immunodépression ne doit pas être significative. Une grande différence de virulence entre les vaccins a été trouvée par ces auteurs.

L'efficacité et la protection sont évaluées en fonction des résultats zootechniques, de l'absence de signe clinique, et des sérologies IBD.

Il faut aussi déterminer le pouvoir du virus vaccinal à disséminer latéralement à partir des animaux vaccinés et si sa virulence peut augmenter par le passage d'oiseau à oiseau comme l'a démontré Muskett (39).

Les conditions auxquelles doivent répondre les vaccins peu atténués (« hot ») n'ont pas encore été fixées par l'Agence Européenne du Médicament, c'est pourquoi ces vaccins ne reçoivent pas une Autorisation de Mise sur le Marché mais une Autorisation Temporaire d'Utilisation.

2.2. CLASSIFICATION DES VACCINS

2.2.1. Les vaccins vivants atténués

Les vaccins vivants atténués sont à l'origine d'une infection contrôlée qui imite l'infection naturelle sans toute fois l'égaliser, ni dans la gravité de ses conséquences ni dans l'intensité de la réponse immune qu'elle déclenche. Comparée aux souches virulentes, les souches vaccinales sont dites moins invasives car beaucoup moins aptes à franchir les défenses naturelles de l'oiseau et très souvent incapables de diffuser d'un animal vacciné à un animal en contact.

Les vaccins vivants atténués sont utilisés pour la primovaccination des futurs reproducteurs et pour la vaccination des poulets de chair. Ils sont peu onéreux, permettent une administration rapide à un grand nombre d'animaux par l'eau de boisson et ils induisent l'apparition d'une immunité active rapide. Cependant, le virus vaccinal vivant reste présent dans l'élevage d'une bande à l'autre, il provoque une immunodépression passagère qui peut empêcher l'immunisation avec un autre vaccin et surtout il est neutralisé par les anticorps maternels. Les anticorps maternels vont persistés en moyenne les trois premières semaines de vie chez le poussin, le protégeant plus ou moins d'une infection précoce grave : ils empêchent la multiplication des virus sauvages et vaccinaux de façon limitée dans le temps et hétérogène au sein d'une population.

Les souches vaccinales disponibles sur le marché sont classées en trois catégories en fonction de leur pouvoir virulent. Plus le titre en anticorps maternels des poulets de chair est élevé, plus la souche vaccinale choisie doit être virulente pour passer la barrière protectrice de l'immunité passive.

- Les souches vaccinales de virulence très atténuée (ou souches très modérées) présentent une totale innocuité, elles n'entraînent aucune lésion de la bourse de Fabricius. Elles ne sont efficaces que pour des poussins sans anticorps. Ces souches ne sont pas utilisées en France car tous les reproducteurs sont vaccinés.

- Les vaccins « intermédiaires » présentant une virulence modérée sont utilisés actuellement en France dans les élevages où l'IBD est subclinique. Muskett (38) a comparé des vaccins très atténués et intermédiaires sur des poulets protégés par des anticorps maternels et sur d'autres

poulets sans anticorps maternel. Le vaccin très atténué n'a causé aucun dégât à la bourse de Fabricius quel que soit le groupe, mais il n'a protégé que les poulets sans anticorps maternels. Le vaccin intermédiaire a causé des dégâts sur la bourse de Fabricius et a protégé les 2 groupes. Il était légèrement immunodépresseur et les poulets de chair libéraient du virus vaccinal.

- Les souches vaccinales invasives (de forte virulence) ou « hot » sont utilisées en milieu infecté par des souches très pathogènes (vvIBDV) et en présence de forts taux d'anticorps maternels. La date de vaccination est calculée à partir des titres sérologiques ELISA de 20 poussins prélevés à l'âge de 1 jour à l'aide de la formule de Kouwenhoven. Plus la population de poussin a un statut immunitaire homogène (calcul de l'écart type), plus la vaccination sera efficace. La présence de poussins sans anticorps maternels dans une population vaccinée avec ces souches chaudes présente un risque de mortalité élevé. Ces vaccins vivants invasifs conservent un pouvoir immunodépresseur non négligeable. Il ne faut donc pas réaliser une autre vaccination (maladie de Newcastle ou Bronchite Infectieuse) dans les jours qui suivent la vaccination avec une souche « hot » d'IBDV.

En pratique, le vaccin est choisi en tenant compte de plusieurs paramètres : taux d'anticorps maternels, homogénéité du lot, virulence des souches de virus sauvage et risque de contamination par le virus sauvage.

2.2.2. Les vaccins inactivés, en adjuvant huileux, pour poules futures pondeuses ou reproductrices

Les virus inactivés sont totalement inoffensifs et ne permettent pas la diffusion de la souche vaccinale. Wyeth et Cullen (59) et Ide (22) ont montré qu'une vaccination à 16-18 semaines des reproductrices avec un virus inactivé en suspension huileuse crée une immunité solide. Leurs descendants possèdent des anticorps maternels pendant environ 3 semaines et ils peuvent survivre à un challenge à 2 et 3 semaines. Par contre, les reproducteurs vaccinés à 16 semaines avec une suspension aqueuse de virus inactivés ou les reproducteurs non vaccinés, ont produit des poulets avec un niveau de protection plus faible à une épreuve virale. Wyeth et Cullen (60) ont publié le 1^{er} essai qui combinait une vaccination avec un virus vivant intermédiaire dans l'eau de boisson à 8 semaines suivi d'un rappel avant l'entrée en ponte à 21 semaines avec virus inactivé. Les titres d'anticorps, mesurés par diffusion quantitative sur

gel d'agar, étaient plus hauts et plus homogènes pendant les 54 semaines que ceux des reproductrices ne recevant qu'un vaccin inactivé à 8 semaines. De plus, les anticorps maternels des descendants persistaient 25 jours si les parentaux avaient reçu 2 vaccins contre 17 jours pour les autres. Dans un autre essai Wyeth.(61) a démontré que le poids vif des poulets de chair issus de parents boostés augmentait de 8% (entre 2% et 13%) par rapport aux autres poulets de chair et que leur indice de consommation était amélioré de 3%. Ces descendants montraient une différence significative de taux d'anticorps maternels : ils persistaient 22 jours au lieu de 15 jours. L'amélioration des performances des poulets de chair a été attribuée à la protection contre la forme immunosuppressive d'une épreuve au virus sauvage et des infections ultérieures comme l'hépatite à adénovirus et les colibacilloses qui affectent les descendants de parents non boostés.

Ainsi, l'immunisation des poules reproductrices et des poules pondeuses repose sur l'injection d'un vaccin inactivé contenant un adjuvant huileux avant l'entrée en ponte faisant suite à une primo-vaccination avec un vaccin vivant. Ils entraînent une réponse immunitaire forte et de longue durée qui assure la protection des poules et pour les reproductrices la transmission d'un taux d'anticorps élevé aux poussins. En règle générale, on considère que les vaccins assurent une protection pendant toute la période de ponte. Il est parfois souhaitable de contrôler cette transmission passive de l'immunité en cours de ponte pour éventuellement revacciner si celle-ci est insuffisante. Le taux d'anticorps observé chez les poussins ainsi protégés est en corrélation avec ceux des reproductrices pendant toute la période de ponte. La poule immunisée transmet au poussin de 1 jour au moins 50% de son niveau immunitaire propre (10).

2.2.3. Les vaccins à venir

Ce sont des virus recombinant codant pour des protéines de l'IBDV :

- Van Loon (52) un baculovirus recombinant E22 qui contient les gènes codant pour les protéines structurales d'IBDV variant E (VP2, VP3, VP4). Il n'y a alors plus besoin d'animaux pour la fabrication du vaccin, les chances de contamination sont moindres, le système de production est plus reproductible et la qualité constante.

- virus fowlpox recombinant codant pour VP2. Il n'y a pas d'anticorps détectable pour confirmer la prise vaccinale. La protection dépend de la lignée des poulets (48, 18).

2.3. CHOIX DE LA DATE DE VACCINATION

Deux écoles s'affrontent en matière de prophylaxie vaccinale : vaccination systématique à 1 jour avec des souches intermédiaires ou calcul de la décroissance des anticorps maternels, pour déterminer l'âge de la vaccination. Dans la première méthode, une primo-vaccination est réalisée le plus tôt possible chez un maximum de poussins qui le permettent, c'est à dire ayant peu d'anticorps maternels. Le but est d'empêcher une diffusion et une multiplication de virus sauvage à bas bruit avant immunisation active par des vaccinations plus tardives. Dans la deuxième méthode, il faut choisir une date de vaccination et donc déterminer 2 paramètres : quel est le seuil d'anticorps maternels résiduels admissible et compatible au vaccin et comment prédire la date à laquelle ce seuil sera atteint.

La protection passive diminue au fur et à mesure que le poussin vieillit et élimine les anticorps maternels. La durée de la protection passive dépend donc à la fois de la quantité initiale d'anticorps transmise et de la vitesse à laquelle le poussin élimine les anticorps reçus.

-la quantité initiale d'anticorps maternels transmis est mesurée par des sérologies ELISA effectuées sur 20 poussins prélevés le jour de la mise en place.

-l'estimation de la cinétique de décroissance des anticorps maternels : le temps de demi-vie plasmatique des anticorps maternels est d'environ 3 jours pour les souches à croissance rapide et de 5 jours chez les souches à croissance lente (10)

-taux d'anticorps maternels résiduels susceptibles d'interférer avec la prise vaccinale. Les titres neutralisants dépendent du vaccin : 1/100^e pour les vaccins très atténués, 1/250^e pour les vaccins intermédiaires et 1/500^e pour les vaccins invasifs.

Kouwenhoven en 1991 a décrit une formule permettant de calculer la date de vaccination (D) : ____

$$D = \sqrt{(m \text{ titres ELISA mesurés}) - 22,36} \div 2,82 + 1$$

- * $\sqrt{\quad}$ racine carré pour rendre la courbe des titres d'anticorps normale
- * 22,36 = racine de 500, et 500 est le titre ELISA seuil interférant avec la prise vaccinale des vaccins « hots », ce seuil est donc fonction du vaccin
- * 2,82 = $\frac{1}{2}$ vie de la racine titre ELISA pour les poulets industriels
- * +1 car Prise de sang sur poussins de 1 jour

Il est impossible de trancher entre les 2 méthodes au vu des connaissances bibliographiques, c'est la raison pour laquelle la meilleure validation d'une prophylaxie contre l'IBD est basée sur l'analyse des résultats techniques.

Le calcul de la date de vaccination pose plusieurs problèmes :

- La représentativité de l'échantillon de 20 poussins sur un lot de 20 ou 30 000 animaux.
- Les animaux prélevés à la mise en place chez l'éleveur sont considérés comme des animaux de 1 jour alors que l'on sait que l'éclosion s'étend sur 36 h et qu'il existe un délai plus ou moins long entre éclosion, livraison chez l'éleveur et arrivée des prises de sang au laboratoire d'analyse vétérinaire.
- Si les résultats ELISA sont hétérogènes (fort coefficient de variation), la formule ne peut plus s'appliquer. En pratique dans ces cas 2 attitudes sont souvent rencontrées : vaccination à une date aléatoire décidée par le vétérinaire ou 2 vaccinations avec des vaccins intermédiaires à des dates qui entourent la date théorique. Cette 2^e solution est économiquement peu rentable.

2.4. LES VOIES TRADITIONNELLES D'ADMINISTRATION DES VACCINS

2.4.1. Vaccination individuelle

Les vaccinations individuelles sont les méthodes de choix pour réaliser une vaccination quand on désire que 100% des animaux soient immunisés. Elles présentent 2 inconvénients majeurs, le coût en personnel d'une manipulation individuelle des animaux et le stress occasionné aux animaux au cours des manipulations.

•Instillation oculaire

Méthode de choix pour contrôler en laboratoire les vaccins vivants de façon à garantir l'administration de chaque sujet, sur le terrain elle n'est pas utilisée en pratique pour les poulets de chair ou les reproducteurs.

•Instillation nasale et trempage du bec

Dans certains pays ces méthodes sont encore utilisées pour la vaccination IBD pendant les premières semaines de vie.

- Injections intramusculaire et sous-cutanée

La voie sous-cutanée à la base du cou et la voie intramusculaire (préférée) au niveau des muscles du bréchet sont utilisées pour tous les vaccins inactivés en adjuvant huileux. C'est la seule méthode de vaccination individuelle utilisée en France pour les reproducteurs avant l'entrée en ponte et les poules pondeuses.

2.4.2. Vaccination de masse

Compte tenu de l'anatomie particulière de la sphère céphalique des oiseaux (les sinus sont en contact avec la cavité buccale par la fente palatine et la cavité buccale est en relation avec la trachée et l'œsophage), il est théoriquement difficile de privilégier la voie aérienne ou la voie digestive. En effet, ces 2 méthodes devraient permettre au vaccin d'atteindre les formations lymphoïdes des voies digestives et surtout la bourse de Fabricius. En pratique, la consommation individuelle d'eau chez les poussins de 1 jour est très variable, donc la vaccination à 1 jour est effectuée au couvoir ou à la mise en place dans l'élevage, par nébulisation. Par contre, il est fortement conseillé de réaliser la vaccination contre l'IBD dans l'eau de boisson pour les individus de plus de 5 jours et non pas par voie aérienne. En effet, la vaccination IBD peut être conduite par nébulisation mais les titres vaccinaux nécessaires pour obtenir le 100% de protection sont plus élevés.

Avec les méthodes de vaccination traditionnelles de nombreux échecs de vaccination sont observés. Ils peuvent être imputés à un mauvais choix de la souche vaccinale ou de la date de vaccination, à une erreur technique lors de l'administration du vaccin, etc. Une nouvelle méthode de vaccination permet de pallier tous ces problèmes : l'injection *in ovo*.

3. LA VACCINATION *IN OVO* CONTRE LA MALADIE DE GUMBORO

3.1. L'INJECTION *IN OVO* : VACCINATION INDIVIDUELLE ET DE MASSE

3.1.1. Présentation de l'injection *in ovo*

La vaccination *in ovo* est une méthode de vaccination à la fois individuelle, une injection par œuf, et collective, les injections sont réalisées par plateaux de 150 œufs avec un rendement de 20 à 50 000 œufs par heure. Deux entreprises commercialisent des machines à injecter les œufs : Embrex Inc, leader du marché, avec sa machine Inovoject® et Cadimaq LTDA , présent dans quelques couvoirs au Chili, avec Servoject®. Aucune information sur le fonctionnement de Servoject® n'étant disponible, seul Inovoject® est traité ici.

L'injection est précise et uniforme. Le système délivre à chaque œuf un volume de 0,05 ml avec une précision de 2%. Deux opérateurs sont nécessaires pour faire marcher Inovoject® : une personne introduit les plateaux d'œufs dans la machine et l'autre enlève les corbeilles d'éclosion remplies et les range dans l'éclosoir. La vaccination IBD n'est donc plus réalisée par les éleveurs mais par le personnel du couvoir spécialisé dans la manipulation de la machine.

3.1.2. Historique et importance d'Inovoject®

C'est aux Etats-Unis en 1982 que le Dr Sharma (United State Department of Agriculture research) a breveté une machine à injecter les œufs. La société Embrex Inc a été fondée en 1985 pour développer et commercialiser cette machine. La première application du système Inovoject® est la vaccination contre la maladie de Marek mise en place aux Etats-Unis en 1992 (43). Aujourd'hui, 80% des poulets de chair américains (7 milliards d'œufs) sont vaccinés *in ovo* contre la maladie de Marek et 500 machines sont commercialisées dans 30 pays (soit 11 milliards de poulets vaccinés *in ovo* dans le monde par an). Les indications de vaccination *in ovo* se sont développées et des vaccins contre l'IBD sont entre autres disponibles.

3.1.3. Fonctionnement d'une machine à injecter les œufs : Inovoject® d'EMBREX

Le système classique d'injection des œufs est composé de 2 parties séparées (une unité d'injection et une unité de transfert).

1. Un opérateur place le plateau d'incubation (150 œufs) sur le convoyeur de la machine qui transporte les œufs sous les têtes d'injection. Différentes vitesses de convoyage sont possibles pour maintenir ou provoquer des séparations entre les plateaux et des senseurs photoélectriques vérifient la position des plateaux avant l'injection.
2. La tête d'injection est fixée sur 2 cylindres hydrauliques qui provoquent un mouvement vertical : la tête d'injection est doucement abaissée sur l'œuf. Lorsque les œufs sont correctement positionnés, les injecteurs sont bloqués et un trocart de petit calibre (20 gauges) perce un trou dans la coquille au niveau de la chambre d'air sans en percer la membrane. Des aiguilles (16 gauges) passent dans le trocart et sont enfoncées alors à l'intérieur de l'œuf à une profondeur d'environ 2,5 cm. Une quantité déterminée et très précise de vaccin est alors injectée dans le liquide amniotique de l'œuf. L'aiguille se rétracte dans le trocart qui lui-même sort de l'œuf. La tête d'injection est remontée.
3. La désinfection du trocart et de l'aiguille est réalisée sous pression après chaque injection. Une pompe péristaltique distribue le désinfectant à la base de chaque injecteur : les faces externe et interne du trocart et la face externe de l'aiguille sont alors aspergées.
4. Après l'inoculation, le convoyeur déplace les tiroirs d'incubation vers l'aire de transfert. Les œufs sont automatiquement saisis par des ventouses et déposés dans des paniers d'éclosion. Une personne place les paniers vides d'éclosion dans le circuit, retire les plateaux d'incubation vides et place les paniers d'éclosion pleins dans le chariot d'éclosion.
5. Un programme informatique gère l'ensemble des opérations. Les points de contrôle critiques sont les volumes du vaccin, du désinfectant et le moment exact de distribution. Tout dysfonctionnement d'un élément critique entraîne l'arrêt immédiat de la machine
6. La pompe à vaccin est une pompe péristaltique à air, avec des volumes prédéterminés de distribution de 50 ou 100 microlitres pour chaque œuf. Le système est clos (un seul sens) et utilise des poches souples pour conserver le vaccin stérile (pas de prise d'air qui permettrait l'entrée de contaminant).
7. La machine est nettoyée et désinfectée avant et après chaque utilisation. L'intérieur du système de distribution du vaccin (tubes et robinets) est rempli successivement par de

l'eau, un nettoyant (eau, acide citrique, bromure de sodium et hypochlorite de sodium), de l'eau et enfin de l'alcool isopropylique.

3.1.4. Le choix de la date d'injection *in ovo*

Il dépend du stade de développement de l'embryon. En pratique, l'injection est réalisée pendant le transfert de l'incubateur à l'éclosoir, c'est à dire à 18 jours d'incubation. Expérimentalement, la meilleure période est entre J 17 +12 h et J 19 + 2 h (avec J 0 le début de la mise en incubation). Réaliser un transfert à J 17 au lieu de J 18 peut réduire l'éclosabilité jusqu'à 2,5% et cela indépendamment de l'injection. En effet, à J 18, la respiration aérienne de l'embryon est déjà mise en place. Or, les caractéristiques de circulation d'air (liées à la teneur en O₂, à l'humidité, température et pertes d'eau de l'embryon) sont plus favorables à la respiration de l'embryon dans l'éclosoir que dans l'incubateur. On peut noter que la réalisation d'un trou dans la coquille à ce stade de développement par l'intermédiaire de l'injection entraîne une augmentation de 25 à 30 % de la porosité de la paroi de l'œuf, ce qui constitue un avantage physiologique pour l'embryon, particulièrement pour les œufs issus de vieux troupeaux de reproducteurs. Cependant, si l'injection est réalisée trop tôt (J 17), cela constitue une porte d'ouverture aux contaminations bactériennes.

3.1.5. Contraintes sanitaires

Par l'injection *in ovo* les deux barrières protectrices, coquille et membrane de la chambre à air, sont rompues. Les risques de contamination microbienne sont donc réels. Ainsi, les spores d'*Aspergillus* sont particulièrement recherchées car elles se développent facilement sur les œufs clairs ou les embryons morts précocement. Il est donc préférable avant l'injection de bien trier les œufs infertiles ou fêlés avec embryon mort dans lesquels des *Aspergillus*, *Pseudomonas* ou autres germes se sont multipliés afin de ne pas surcontaminer la machine et l'environnement.

Le système Inovoject® ne peut être installé que dans des couvoirs modernes qui respectent des mesures sanitaires strictes (marche en avant, absence d'entrecroisement des circuits, vérification du système d'aération, etc). Dans l'injection elle-même, le risque de contamination existe à 2 niveaux, le vaccin et le matériel d'injection. La préparation du vaccin doit être réalisée dans des conditions d'hygiène très strictes. En effet, par rapport à un poussin de 1 jour, l'embryon est plus fragile et moins immunocompétent. En conséquence, la moindre

contamination bactérienne que le système immunitaire d'un poussin d'un jour pourrait neutraliser, est fatale pour l'embryon. Toutes les opérations liées à l'Inovject® réclament un degré d'hygiène supérieur à l'injection de poussins de 1 jour. Ainsi, la préparation du vaccin doit être effectuée dans une pièce spéciale, propre, isolée le plus possible de l'atmosphère contaminée des couvoirs (duvet et poussières de coquille en suspension). Ce ne doit pas être une salle de stockage et les filtres de la ventilation doivent être changés régulièrement. Le vaccin est conservé dans un réfrigérateur. Un opérateur, dont les mains sont nettoyées et désinfectées, prélève stérilement de l'eau dans une outre d'eau physiologique pour intra veineuse, reconstitue le vaccin lyophilisé et l'injecte dans l'outre (il ne faut pas utiliser de bouteilles en verre car la prise d'air peut contaminer le mélange vaccinal). La machine est nettoyée et désinfectée avant et après chaque utilisation et les aiguilles et trocars sont désinfectées entre chaque plateau d'œufs (cf 3.1.3.).

3.1.6. Le site d'injection in ovo

L'organisation interne des oeufs de poulets au transfert (17-19 jours) est en plein changement. En effet, alors que l'embryon se développe et grandit, les compartiments embryonnaires diminuent et disparaissent. A 17 jours, l'embryon ne s'est pas encore positionné pour l'éclosion. A 19 jours en revanche, le bêcheage interne, et même parfois externe, est commencé. Le système Inovject® fait un trou au niveau de la partie large de l'œuf et l'injection est réalisée à une profondeur de 2,5 cm environ. Le lieu exact où est délivré le vaccin est déterminé par la taille de l'œuf et celle de l'embryon. Les facteurs qui influencent ces critères (âge d'incubation, âge des reproducteurs, température d'incubation, etc) jouent sur le site d'injection. L'orientation des oeufs sur le plateau d'incubation (degré par rapport à la verticale ou à l'envers) agit aussi sur le lieu d'injection. Alan Avakian et Tom Bryans (Embrex Inc) dans un essai non publié, ont étudié le lieu précis d'injection sur des oeufs de poulet de chair Cobb et Ross de 51-52 semaines. Un colorant –Bleu Brillant de Coomassie- a été injecté à 17, 18 et 19 jours d'incubation. A 18 jours et 6 heures, ils ont trouvé 94% du colorant dans le liquide amniotique, 4,4% dans l'embryon et 2% dans l'allantoine. A 19 jours et 6 heures, 91% du colorant est dans l'embryon et 9% dans l'amnios. Dans les conditions commerciales, l'injection est donc réalisée dans le liquide amniotique ou dans l'embryon.

3.2. LES VACCINS *IN OVO* CONTRE LA MALADIE DE GUMBORO

3.2.1. IBDV complexé avec des anticorps anti-IBDV

Sharma en 1985 (47) a injecté *in ovo* des virus vaccinaux à des embryons SPF de 18 jours d'incubation. Les virus vaccinaux très atténués sont sans danger pour les embryons, et les poulets sont résistants à une épreuve d'infection expérimentale avec un IBDV virulent à 3 semaines de vie. Cependant, un vaccin modéré ou intermédiaire administré *in ovo* ne passe pas la barrière des anticorps maternels des poussins commerciaux. Pour être efficace il est donc nécessaire d'employer des virus vaccinaux plus virulents. Or, la souche vaccinale intermédiaire plus 2512 injectée seule entraîne une mortalité embryonnaire d'environ 15% et ne peut donc être employée. Pendant la période de 1985-1991, Whitfill a développé à l'Université d'Arkansas, le Virus Neutralising Factor® (VNF®). Whitfill, Avakian et Haddad (17 et 55) ont testé l'association du virus vaccinal 2512 avec des anticorps anti-IBDV ou VNF®. Ces chercheurs ont montré que l'innocuité du virus complexé est meilleure que celle du virus seul, et ceci même pour des poulets SPF. L'éclosabilité des lots vaccinés *in ovo* avec ce vaccin complexé est identique ou meilleure à celle des lots non injectés *in ovo*. L'innocuité de ce vaccin est fortement dépendante du dosage entre virus et anticorps. En effet, si tous les virus ne sont pas complexés, l'éclosabilité diminue. La production commerciale de ce vaccin implique donc une contrainte supplémentaire, le dosage du virus vaccinal est connu avec exactitude et le nombre de particules virales d'un lot de production à l'autre est stable. Un vaccin issu de cette technologie -BURSAPLEX®- est commercialisé par Embrex Inc, il est composé de la souche 2512 et du VNF. Un autre vaccin, BURSAMUNE *in ovo*® était commercialisé en Europe par Fort Dodge Santé Animale. L'essai terrain du dossier d'AMM de BURSAMUNE *in ovo*® compose la partie 2 de cette étude.

3.2.2. Mode d'action du complexe virus/anticorps anti-IBDV

Klaus démontrait en 1978 (27) que des complexes anticorps-antigènes formés *in vitro* sont 100 fois plus efficaces pour induire des réponses immunitaires humorales *in vivo* que l'antigène seul. Jeurissen et coll. (25 et 26) ont essayé de comprendre le mécanisme d'action d'un vaccin formé d'un complexe anticorps-antigène. Ils ont injecté *in ovo* à 18 jours d'incubation un vaccin IBD vivant intermédiaire plus à un premier groupe d'œufs et un vaccin IBD complexé (IBDV-Icx) à un deuxième groupe. Ils ont recherché par

immunofluorescence les organes et les cellules cibles du virus vaccinal ainsi que sa vitesse de réplication. Dans les 2 groupes, l'IBDV est détecté en association avec les lymphocytes B, les macrophages et les cellules folliculaires dendritiques (FDC) dans la bourse de Fabricius et la rate (aucun virus dans le thymus). On peut retenir 3 grandes différences entre les 2 groupes de vaccination IBDV et IBDV-Icx dans la bourse de Fabricius :

-Le début de la réplication virale est retardé de 5 jours dans le groupe IBDV-Icx, on ne connaît pas le devenir de ces complexes *in vivo*.

-Après la réplication virale, l'atrophie des lymphocytes B de la bourse de Fabricius et de la rate est très inférieure pour les IBDV-Icx. Le complexe protège donc au moins une partie des lymphocytes B de l'action lytique du virus : les anticorps sont fixés sur le site viral qui normalement interagit avec les récepteurs cellulaires des lymphocytes B.

-La plus grande différence concerne le nombre de centres FDC bursiques restant. A 10 jours environ tous les FDC ont disparu pour les poulets vaccinés avec IBDV alors qu'ils étaient encore détectés chez les poulets vaccinés avec IBDV-Icx. Ainsi, les FDC ont besoin d'un micro-environnement en lymphocytes B pour afficher une apparence normale et fonctionner pendant l'ontogenèse et l'âge adulte.

Avec l'injection *in ovo* de vaccin IBD complexé à un sérum hyperimmun, la vaccination contre la maladie de Gumboro est indépendante du taux d'anticorps maternels. Les effets pathologiques du virus vaccinal sont retardés ce qui permet d'utiliser un virus plus virulent.

Deuxième partie :

**ESSAI CLINIQUE TERRAIN EN FRANCE : EFFICACITE
ET INNOCUITE D'UN VACCIN IBD ADMINISTRE *IN*
*OVO***

Le laboratoire pharmaceutique Fort Dodge Santé Animale, a développé un vaccin contre l'IBD -BURSAMUNE®- injecté *in ovo*, à partir de la souche V877 et d'un sérum hyperimmun à l'IBD .

Dans cet essai, efficacité et innocuité du vaccin Bursamune® *in ovo* ont été éprouvées dans des conditions naturelles d'exposition, en comparaison avec les vaccins conventionnels.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. MATERIEL

1.1.1. Animaux

Les poussins proviennent de 15 parquets de reproducteurs, chaque lot expérimental étant issu de 2 à 5 parquets parmi ces 15 (Tableau I). Les parquets de reproducteurs sont âgés de 23 à 59 semaines au moment de l'inclusion du 1^{er} site (02 février 1998). Ils sont vaccinés contre l'IBD, la Bronchite Infectieuse, la maladie de Newcastle, le Syndrome Infectieux de la Grosse Tête, la Laryngotrachéite, l'Encéphalomyélite et les Réoviroses. Le programme vaccinal est fourni en annexe A.

Les œufs sont incubés dans un seul couvoir situé dans le département d'Ile et Vilaine.

Les poulets de chair standard sont de souche Shaver excepté pour le site D bis où la souche est Vedette sur la demande de l'éleveur. Les mâles et les femelles sont mélangés.

La conduite d'élevage n'a pas été modifiée : tous les poulets sont vaccinés contre la Bronchite Infectieuse et les animaux témoins sont vaccinés contre l'IBD soit 2 fois avec un vaccin intermédiaire (IBD subclinique) soit 1 fois avec un vaccin invasif (IBD aiguë). Les animaux testés sont vaccinés *in ovo* à 18-19 jours d'incubation quel que soit le statut IBD de l'élevage. L'utilisation de coccidiostatiques et de facteurs de croissance est systématique, l'eau est fournie ad libitum (eau de forage ou de secteur) et l'origine de l'aliment est la même pour les 2 lots d'un même élevage. L'aliment (aliment poulet standard) est fabriqué et livré par 3 usines différentes.

Les poulets sont abattus dans le département de la Mayenne entre 35 et 42 jours, pour un poids vif variant de 1,8 à 2 Kg.

Site	dprt			nombre de poussins mis en place	origine (parquets)	âge des parquets de reproducteurs le 02-98 en semaines	âge de vaccination IBD en jours*	éclosabilité %
C	53	A	lot <i>in ovo</i>	34 986	U, N, S	40, 41, 45	ND	81,0
			lot témoin	37 638	U, N, S	40, 41, 45		80,4
F	53	S	lot <i>in ovo</i>	26 010	N, P, U	41, 45, 40	18	80,3
			lot témoin	36 873	N, P, U	41, 45, 40		80,9
D	35	A	lot <i>in ovo</i>	35 088	N, S, T, U	41, 45, 33, 40	19	81,2
			lot témoin	28 254	N, S, T, U	41, 45, 33, 40		84,1
B	53	S	lot <i>in ovo</i>	32 844	N, Q, S, U	41, 59, 45, 40	19	74,5
			lot témoin	32 844	N, Q, S, U	41, 59, 45, 40		75,2
H	50	S	lot <i>in ovo</i>	25 551	N, K, P, S, U	41, 41, 45, 45, 40	19	77,4
			lot témoin	25 602	N, K, P, S, U	41, 41, 45, 45, 40		77,6
I	53	A	lot <i>in ovo</i>	33 864	S, T, U, W, X	45, 33, 40, 33, 33	18	81,5
			lot témoin	27 642	S, T, U, W, X	45, 33, 40, 33, 33		84,5
E	53	S	lot <i>in ovo</i>	13 362	N, U	41, 40	18	79,5
			lot témoin	13 566	N, U	41, 40		80,8
A	53	S	lot <i>in ovo</i>	26 418	K, L	41, 33	19	82,3
			lot témoin	26 928	K	41		83,9
F bis	53	S	lot <i>in ovo</i>	26 520	O, Y	27, 23	19	81,9
			lot témoin	19 278	O, Y	27, 23		82,4
D bis	53	A	lot <i>in ovo</i>	25 092	M, R, V	26, 28, 26	19	87,1
			lot témoin	29 580	M, R, V	26, 28, 26		88,0
G	53	A	lot <i>in ovo</i>					
			lot témoin					
m			lot <i>in ovo</i>	27 974		35,5	18,67	80,7
			lot témoin	27 821				81,8
σ			lot <i>in ovo</i>	6 618				3,3
			lot témoin	7 369				3,7

* en jours d'incubation pour les lots *in ovo*

forme de la maladie : A =Aiguë S = Subclinique

m : moyenne des lots

σ : écart-type des lots

dprt : département

G : site exclu de l'essai

Tableau I : Présentation des sites

1.1.2. Elevages

1.1.2.1. Classification des sites selon la forme de l'IBD

L'historique de la maladie est fourni par les techniciens :

- les sites présentant un pic de mortalité avec des lésions de la bourse de Fabricius sur les lots précédents et vaccinant avec des vaccins invasifs sont considérés comme IBD aiguë,

- les sites utilisant un vaccin intermédiaire sont considérés comme des sites à IBD subclinique.

1.1.2.2. Critères d'inclusion des sites

Les techniciens présélectionnent les élevages selon les critères suivants : chaque élevage possède 2 bâtiments comparables sur des critères techniques (type de construction, système de ventilation, chauffage, alimentation, abreuvement...) et sur les résultats zootechniques des 3 derniers lots sortis en poulet.

Avant l'inclusion, l'investigateur visite les sites pour vérifier les critères requis et pour demander l'accord de l'éleveur. Un « consentement du propriétaire » est signé par chaque éleveur avant l'inclusion dans l'essai.

1.1.2.3. Sites sélectionnés

- Le nombre de sites doit être compatible avec le planning du couvoir et de l'abattoir. Le statisticien estime que 8 sites sont nécessaires. Par précaution, 9 élevages sont sélectionnés, et afin de prévenir une perte de site pendant l'essai (maladie concomitante, données non valables...), deux élevages (F et D) sont inclus 2 fois dans l'étude. Ces 2 sites sont choisis pour la bonne coopération des éleveurs. Donc, au total 11 répétitions sont prévues.
- Le site H, bien que composé de 3 bâtiments (2 bâtiments accolés de 500 m² et 1 bâtiment de 1000 m²), est inclus dans l'essai. Un des 2 lots est mis en place dans les 2 bâtiments de 500 m² (les échantillons collectés proviennent des ces 2 bâtiments et les résultats zootechniques utilisés sont la moyenne des 2 bâtiments).
- Les élevages impliqués dans l'étude sont implantés dans 3 départements : la Mayenne (53), l'Ile et Vilaine (35) et la Manche (50).

1.1.2.4. Bâtiments

Les bâtiments sont de type « Classique » ou « Louisiane ». Leur surface est de 500 à 1200 m². La ventilation est latérale statique pour les bâtiments « Louisiane » et dynamique ou statique

extraction haute pour les « Classiques ». Sur chaque site, les deux bâtiments sont séparés par une distance d'au moins 15 mètres.

Pendant la période expérimentale, la conduite d'élevage n'est pas modifiée :

- un vide sanitaire de 8 jours entre les bandes,
- la production - soit de poulets, soit de dindes - est alternée en fonction des demandes du marché.

1.1.3. Vaccins testés

Les vaccins testés sont été fournis par le laboratoire pharmaceutique.

1.1.3.1. Vaccin BURSAMUNE®

Le vaccin BURSAMUNE® *in ovo* est un vaccin vivant lyophilisé conditionné dans des flacons de 20 ml (5000 doses par flacon). Il a deux composants immunologiques, une souche d'IBD vivante modifiée (IBD V877 750 000 EID₅₀) et un antisérum IBD (Bursal Disease Antiserum -BDA- 150 000 unités). Le BDA est produit par des poulets SPF. Le support est du saccharose phosphate albumine (q. s. p. 20 ml). Le vaccin est conservé entre +2 et +8° C et est protégé de la lumière.

Le diluant utilisé pour reconstituer le vaccin est de l'eau stérile contenue dans des outres plastiques de 1 litre (URO3000®, Laboratoire Aguettant, 1 rue Alexandre Fleming, 69007 Lyon, France). Il est stocké à température ambiante, protégé de la lumière.

1.1.3.2. Vaccins des groupes témoins

Afin de maintenir les conditions de terrain, le programme de vaccination des lots témoins n'est pas modifié : l'éleveur conserve le choix de ses vaccins et des méthodes d'administration.

- Sites IBD « aiguë » :
 - POULVAC® BURSA (FORT DODGE Santé Animale).
- Sites IBD « subclinique » :
 - POULVAC® BURSINE 2 (FORT DODGE Santé Animale).

- BUR-706® (MERIAL)

Les dosages, voies d'administration et conditions de stockage suivent les recommandations des fabricants (annexe B).

1.1.4. Sérologie

Le titrage est réalisé avec le kit ELISA GUMBORO KPL (Laboratoire Service International, Le Sémanet 4, 1bis allée de la Combe, 69380 LISSIEU, France).

1.1.5. Appareils

1.1.5.1. Description de la machine à injecter les œufs INOVOJECT® d'Embrex

Cf : 1^{ère} partie chap 3.1.2. et l'annexe D.

1.1.5.2. Balances

Les animaux sont pesés avec la balance Précisa™ ; sensibilité de 0.1g ; minimum 5 g ; maximum 3 000 g.

La bourse de Fabricius sont pesée avec une balance Ohaus™ ; sensibilité 0.01g ; minimum 0.1 g ; maximum 200 g.

1.2. PLAN EXPERIMENTAL

1.2.1. Modèle de l'essai

Neuf élevages sont sélectionnés, un élevage représente **un site** et les poulets élevés dans un bâtiment constituent **un lot**. Sur chaque site, 2 lots de poulets sont élevés : 1 lot vacciné *in ovo* et 1 lot témoin. L'ensemble des lots vaccinés *in ovo* constituent le **groupe *in ovo***, l'ensemble des lots vaccinés selon le programme traditionnel constituent le **groupe témoin**. Les 2 groupes *in ovo* et témoin sont appelés **groupes de traitement**.

L'unité expérimentale est le lot de poulet. Les poulets sont vaccinés et mis en place par lot. Tous les résultats de production sont donnés par lot.

Les inclusions successives des sites sélectionnés pour l'essai ont été réalisées sur une période de 2 mois.

1.2.2. Traitements des animaux

- La vaccination des lots *in ovo* se fait au couvoir.
- Les lots témoins des sites à IBD aiguë : 20 poussins sont prélevés au couvoir pour effectuer un contrôle sérologique IBD. Les résultats des sérologies sont envoyés à Fort Dodge Santé animale qui calcule la date de vaccination. Cette unique vaccination est effectuée entre 16 et 19 jours.
- Les lots témoins des sites à IBD subclinique : la vaccination est d'emblée réalisée au couvoir. L'éleveur effectue un rappel entre 13 à 15 jours d'âge.

1.2.3. Etapes et enregistrements réalisés

1.2.3.1. Par l'éleveur

Pendant toute la durée de l'élevage, l'éleveur enregistre les données zootechniques sur la feuille d'élevage de l'intégrateur : pesée tous les 5 jours, mortalité journalière et traitements médicamenteux préventifs et curatifs. Il effectue la vaccination des lots témoins.

1.2.3.2. Par l'investigateur

- 18-19 jours d'incubation :
 - répartition des œufs dans 2 groupes de traitement
 - vaccination *in ovo* d'un des 2 lots
 - identification des casiers de l'éclosoir

- Jour 0 - 1 :
 - éclosion et enregistrement de l'éclosabilité
 - poussins témoins : 20 prises de sang pour les sites à IBD aiguë ou vaccination IBD pour les sites avec IBD subclinique
 - mise en place des poussins par site.

- Semaine 3, 4 et 5 :
 - Prélèvement d'un échantillon de 20 poulets vivants dans chaque lot :
 - prises de sang pour ELISA IBD
 - mesure des poids vifs et de la bourse de Fabricius
 - examen macroscopique de la bourse de Fabricius
 - fixation de la bourse de Fabricius dans du formol 10% (pour un éventuel examen histologique ultérieur)

- Semaine 6 (Abattage)
 - 20 prises de sang pour ELISA IBD (sauf quand la date d'abattage est trop proche du prélèvement de 5 semaines)
 - relevé de la fiche d'élevage de l'éleveur
 - relevé des informations zootechniques de l'abattoir

1.3. METHODES

1.3.1. Randomisation – Utilisation des techniques « aveugle »

- Au couvoir, choix et distribution des œufs dans les 2 groupes de traitement.

Le choix des œufs est réalisé par le personnel du couvoir en fonction des disponibilités et des commandes : ils tentent de constituer des lots avec le moins de parquets de reproducteurs différents et avec un âge de ponte le plus proche (afin d'avoir des poussins les plus homogènes possibles).

Le jour de l'injection, les œufs sortant des incubateurs sont stockés sur des chariots (chacun contenant 4 800 œufs) identifiés par le nom du parquet des reproducteurs et la date d'incubation. Avant la vaccination *in ovo*, les chariots de chaque parquet de reproducteurs sont divisés par tirage au sort en deux groupes. Cependant, quand le nombre de chariots d'un parquet de reproducteur n'est pas pair, un chariot supplémentaire est attribué par tirage au sort à l'un des 2 groupes. Les traitements sont tirés au sort. Les œufs d'un des groupes de chariot sont injectés avec le vaccin BURSAMUNE® *in ovo* et placés dans des casiers d'éclosion identifiés par des pastilles autocollantes bleues. Les œufs témoins sont directement transférés dans les casiers d'éclosion identifiés par des pastilles rouges.

- Sur les sites, mise en lots de poussins dans les bâtiments.

Pour éviter tout biais de la part de l'éleveur, l'allotement est fait le jour de la mise en place des poussins par tirage au sort (pile = lot bleu ou face = lot rouge), par l'investigateur et l'éleveur.

Pour les sites F bis et D bis, il n'y a pas eu de tirage au sort : les lots de traitement assignés aux deux bâtiments sont l'inverse de ceux des premiers essais F et D.

- Après ces étapes, aucun aveugle n'est possible car,
 - l'éleveur et les techniciens organisent les vaccinations des bâtiments témoins,
 - le jour de la mise en place des poussins, l'éleveur peut facilement identifier le lot vacciné *in ovo* par la présence de résidus de coquilles perforées qui correspondent aux trous d'injection du vaccin *in ovo*,
 - dans les fermes à IBD aiguë, le laboratoire d'analyse connaît le lot témoin pour réaliser des sérologies IBD sur les poussins de 1 jour et transmettre la date de vaccination à l'éleveur.

1.3.2. Administration des vaccins

- Vaccin testé

Le vaccin lyophilisé est reconstitué avant l'injection : quelques ml de diluant sont prélevés de l'outre puis injectés dans les 4 flacons de vaccin. Le mélange est homogénéisé et réinjecté avec une seringue stérile dans l'outre de diluant pour arriver à un volume final de 1 000 ml pour 20 000 doses.

La solution vaccinale a été administrée (0.05 ml/œuf) avec la machine automatique à injection *in ovo* Inovoject® d'Embrex.

- Vaccins du groupe témoin
 - POULVAC® BURSA a été administré par les éleveurs de sites présentant de l'IBD aiguë, dans l'eau de boisson. La date de vaccination a été calculée par le laboratoire Fort Dodge Santé Animale France, à partir des titres en anticorps des 20 prises de sang de poussins de 1 jour mesurés au laboratoire Bio Chêne Vert. L'âge de vaccination est de 16 à 19 jours.
 - POULVAC® BURSINE 2 est administré 2 fois : en nébulisation au couvoir le jour de l'éclosion, et dans l'eau de boisson par l'éleveur (entre 13 et 15 jours d'âge).
 - BUR-706® (sites F et F bis) a été administré par l'éleveur, à 13 jours d'âge, dans l'eau de boisson, à la place du rappel avec le POULVAC® BURSINE 2.

- Contrôles des techniques de vaccination
 - L'injection *in ovo* : l'investigateur a assisté à toutes les injections *in ovo* et au début de l'étude, il a été supervisé par un spécialiste d'Embrex pour la préparation du vaccin et l'utilisation de la machine à injecter.
 - La vaccination des groupes témoins : afin de maintenir les conditions du terrain, les vaccinations ont été réalisées par les éleveurs, sans recommandation des investigateurs, selon les pratiques habituelles de chaque site.

1.3.3. Evaluation de l'efficacité et de l'innocuité

1.3.3.1. Définition des critères d'efficacité et d'innocuité

La vaccination avec le vaccin Bursamune® *in ovo* peut être considérée comme efficace et sans danger pour le contrôle de l'IBD sur les poulets de chair si, après une seule injection *in ovo* :

- le vaccin provoque une réplication du virus vaccinal dans la bourse, suivie d'une réponse sérologique, au moins en même temps que les vaccins conventionnels,

- il prévient l'apparition de signes cliniques reliés à l'IBD (apparition d'un pic de mortalité pendant la période d'élevage dans sa forme aiguë, ou baisse des résultats techniques dans sa forme subclinique),
- il n'entraîne aucune conséquence indésirable sur les résultats techniques,
- il ne diminue pas les résultats techniques du couvoir (éclosabilité).

1.3.3.2. Source et méthode d'infection

Les animaux sont exposés au virus sauvage d'IBD dans les conditions naturelles.

1.3.3.3. Mesure et enregistrement des critères d'efficacité et d'innocuité

- **Efficacité**

L'efficacité est jugée à partir de 2 critères principaux : la réponse sérologique et la diminution du rapport poids de la bourse de Fabricius sur poids du corps (ou Bursal Body Ratio BBR).

- Sérologie : taux d'anticorps anti IBD

Sur les animaux, amenés vivants par l'investigateur à Bio-ChêneVert, le sang est prélevé à la veine alaire puis les poulets sont euthanasiés par dislocation cervicale.

⇒ Les analyses sérologiques sont réalisées sur le sang, dans des tubes secs.

⇒ A partir des 20 prises de sang, 18, 19 ou 20 sont analysées selon la place restant sur les microplaques ELISA après que les contrôles internes soient réalisés.

⇒ Pour chaque lot et à chaque date d'échantillonnage, la moyenne géométrique (MG) des titres a été calculée comme suit :

$$MG = \exp \left(\frac{\sum (\ln (\text{titre} + 1))}{n} \right) - 1$$

avec n : le nombre d'échantillons
titre : les titres anticorps IBD

- Rapport poids de la bourse sur poids du corps (BBR) :

La réplication du virus dans la bourse de Fabricius est suivie d'une diminution du poids de la bourse par rapport au poids du corps. Cette relation est exprimée par un rapport entre poids de la bourse sur poids du corps (Bursal-Body Ratio BBR).

⇒ les animaux sont pesés après leur mort.

⇒ les poulets, placés sur leur face ventrale, sont incisés au niveau des vertèbres coccygiennes, en face de la bourse de Fabricius qui est retirée délicatement.

⇒ la bourse est pesée .

⇒ Le rapport poids de la bourse sur poids du corps est calculé selon la formule :

$$\text{BBR} = \frac{\text{Poids de la bourse (g)}}{\text{Poids du corps (g)}}$$

⇒ Pour chaque lot, une moyenne arithmétique (MA) des BBR est calculée. Les lots d'un même site sont comparés selon le rapport :

$$\frac{\text{BBR MA lot vacciné } in\ ovo}{\text{BBR MA lot témoin}} \times 100$$

Ce calcul permet de visualiser rapidement l'évolution du BBR dans le lot vacciné *in ovo* par rapport au lot témoin.

- **Innocuité**

L'innocuité est mesurée par l'éclosabilité, l'examen macroscopique des bourses de Fabricius, la viabilité et les résultats techniques des bâtiments.

- Eclosabilité

L'éclosabilité est calculée au couvoir :

$$\% \text{Eclosabilité} = \frac{\text{Nombre de poussins livrés par le couvoir chez l'éleveur }^{(1)}}{\text{Nombre d'œufs incubés }^{(2)}} \times 100$$

⁽¹⁾ Ce nombre a été calculé avec les méthodes du couvoir. Il a été calculé pour chaque parquet de reproducteurs, juste avant le chargement dans le camion (nombre de casiers de poussins de chaque parquet de reproducteurs x nombre de poussins par casier (=102)). Il inclut donc les 2% de poussins gratuits.

⁽²⁾ Nombre de chariots pour chaque parquet de reproducteurs placés en incubateurs (un chariot contient 32 casiers de 150 œufs). L'éclosabilité est calculée à partir du nombre d'œufs incubés, donc avant le mirage des œufs clairs et la casse des œufs au transfert.

- Examen macroscopique de la bourse

Afin de vérifier l'innocuité de la vaccination et les infections possibles par l'IBDV sauvage, les bourses ont été coupées en 2 parties et examinées macroscopiquement. Les lésions suivantes ont été enregistrées :

atrophie (A), œdème (E) et hémorragie (H). Mechanism of action: Conclusions

- ! **Complexing IBDV with VNF caused a delay in IBDV replication by about 5 days.**
- ! **IBDV was detected in/on B lymphocytes, macrophages, and FDC**
- ! **Inoculation with IBDV alone caused a depletion of all bursal cells, whereas after inoculation with IBDV-VNF, some clusters of B cells remain present in the bursa**
- ! **Both caused influx of macrophages and T cells in the bursa.**
- ! **After inoculation with IBDV-VNF, more localization of IBDV is found on bursa FDC than after inoculation with IBDV.**
- ! **Inoculation with IBDV-VNF induced more germinal centers in the spleen than IBDV alone.**

! **These germinal centers are filled with FDC with trapped IBDV immune complexes on their surface.**

- Viabilité

La viabilité est jugée selon 2 paramètres :

⇒ paramètre principal : viabilité à l'abattage.

La viabilité était calculée par l'abattoir, selon les formules usuelles :

$$\text{Viabilité \%} = 100 - \left(\frac{\text{[saisie]}}{\text{[PM]} \times 0,8 \times \text{[poulets]}} \times 100 \right) - \left(\frac{\text{[poulets]} - \text{[abatt]}}{\text{[poulets]}} \right) \times 100$$

Avec :

saisie : poids total de carcasses saisies en Kg

PM : poids moyen vif individuel à l'abattage en Kg

poulets : nombre de poulets mis en place (2% gratuits inclus)

abatt : nombre de poulets abattus.

⇒ paramètre secondaire : mortalité pendant la période d'élevage.

Le nombre quotidien d'animaux morts est enregistré par l'éleveur sur sa feuille d'élevage. La mortalité cumulée est calculée à partir du nombre de poussins mis en place à J0. La mortalité cumulée était comparée à 7, 14, 21, 28 et 35 jours.

Des différences sont apparues entre éleveurs sur la façon d'enregistrer la mortalité, certains d'entre eux comptaient pour morts les animaux prélevés dans le cadre de l'étude ou les animaux qu'ils ont tués pour cause d'anormalité morphologique (déformations des pattes par exemple). Ainsi, ce paramètre doit être analysé avec beaucoup de précautions.

- Paramètres cliniques et zootechniques

La présence d'un pic de mortalité ou d'une baisse des performances techniques est un signe d'un passage viral d'IBD dans l'élevage. Comme ces paramètres sont des paramètres d'efficacité et d'innocuité, ils ne sont décrits qu'une seule fois, dans le paragraphe ci-dessous.

Le paramètre technique principal utilisé pour montrer l'innocuité du vaccin BURSAMUNE® *in ovo* est un index calculé par l'intégrateur.

⇒ Indice de l'intégrateur (DI) :

Cet index est un paramètre interne de la production utilisé pour classer les éleveurs à partir de leurs résultats techniques. Il a été calculé comme suit :

$$DI = \frac{\text{gain moyen quotidien} \times \text{viabilité}}{IC}$$

⇒ Gain moyen quotidien (GMQ) :

$$GMQ = \frac{\text{poids vifs moyen (g)}}{\text{âge d'abattage (j)}}$$

⇒ Indice de consommation (IC) :

$$IC_{\text{Observé}} = \frac{\text{Poids total d'aliment consommé jusqu'à l'abattage (Kg)}}{\text{Poids net total des poulets à l'abattage (Kg)}}$$

L'Indice de consommation corrigé a été calculé selon les méthodes de l'intégrateur, dans l'objectif de tenir compte des différences possibles de dates d'abattage des 2 lots d'un même site. Il permet de ramener le lot à un poids de 1,8 Kg avec un indice estimé de 2,5.

$$IC_{\text{Corrigé}} = \frac{1,8 - \text{poids corporel moyen}}{2,5} + IC_{\text{Observé}}$$

⇒ Poids corporel moyen :

Le poids vif à l'abattoir a été calculé par l'intégrateur selon la formule suivante :

$$\text{Poids à l'abattage} = \frac{\text{poids total des animaux vivants à l'abattoir (Kg)}}{\text{nombre d'animaux à l'abattoir}}$$

Les autres paramètres décrits ci-dessous sont des paramètres descriptifs qui ne sont pas utilisés pour conclure sur l'innocuité et l'efficacité du produit testé.

⇒ Age à l'abattoir :

L'âge d'abattage dépend de la demande sur le marché et ne peut pas être contrôlé pendant la période expérimentale. A la fin de l'engraissement, une partie du lot est souvent abattue avant le reste des animaux, afin de diminuer la densité dans l'élevage ("desserrage"), et pour augmenter les résultats zootechniques de tout le lot (particulièrement l'indice de consommation). Alors, l'âge d'abattage enregistré dans les tableaux d'abattage de l'intégrateur est calculé comme suit :

$$\text{Age d'abattage} = \frac{(\text{Age} \times N + \sum (A_i \times N_i))}{\text{nombre total d'animaux abattus}}$$

Age : âge d'abattage principal (jour)

N : nombre d'animaux abattus lors de l'abattage principal

A_i : âge du desserrage n° i (jour)

N_i : nombre d'animaux abattus lors de l'abattage n° i

⇒ Autres évaluations de poids :

Le poids vif des animaux est mesuré à Bio Chêne-Vert sur les 20 animaux prélevés en semaines 3, 4 et 5, et tous les 5 jours par l'éleveur avec un peson, selon la procédure décrite ci-dessous :

- à 5 et 10 jours d'âge : 100 poulets (pesée de 4 seaux de 25 animaux)
- de 15 jours à l'abattage : 50 poulets, prélevés dans les 4 coins du bâtiment, pesés par petit groupe puis individuellement.

⇒ Pourcentage de saisies :

$$\% \text{ saisies} = \frac{\text{poids total vivant (Kg)} - \text{poids net total (Kg)}}{\text{poids total vivant (Kg)}} \times 100$$

1.3.4. Statistiques

Toutes les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel Systat® version 7.0.1.

- BBR, titres d'anticorps et poids du corps en semaines 3, 4 et 5 :

Pour les variables suivant une loi normale, un modèle mixte (analyse de la variance avec un facteur de correction) est utilisé pour tester l'effet vaccin en tenant compte des corrélations individuelles entre les poulets d'un même bâtiment. L'effet « block » (effet site) et l'interaction entre le traitement et le block sont incorporés en tant que variable aléatoire dans le modèle de l'analyse de variance. Pour chaque block, une analyse de la variance est réalisée pour comparer les lots par site.

Quand les données ne sont pas distribuées normalement (réponse sérologique en semaines 3, 4, 5 et à l'abattoir), un test non paramétrique (test Kruskal-Wallis) est utilisé.

- Les résultats zootechniques et les poids corporels mesurés par l'éleveur tous les 5 jours sont comparés par un test t pour données appariées.
- Viabilité, mortalité cumulée et éclosabilité ont été transformées par la fonction $\text{Arcsin}\sqrt{y}$ pour normaliser les données et les comparer par le test t pour données appariées.
- Aucune analyse statistique des examens macroscopiques de la bourse n'est réalisée.

2. RESULTATS

2.1. EFFICACITE

L'efficacité est évaluée sur 2 critères, le Bursal Body Ratio et la réponse sérologique.

2.1.1. Rapport poids de la bourse de Fabricius sur poids du corps (Body Bursal Ratio)

Quand la valeur du BBR du groupe vacciné *in ovo* est significativement plus basse que la valeur BBR des poulets témoins (% de T < 100%), cela signifie que l'attaque du virus et sa réplication dans le groupe vacciné *in ovo* sont plus précoces que dans le groupe témoin.

Site		3 semaines	% de T (a)	4 semaines	% de T (a)	5 semaines	% de T (a)
C	lot <i>in ovo</i>	0,197	97,5	0,218	138,9	0,064	92,8
	lot témoin	0,202		** 0,157		0,069	
F	lot <i>in ovo</i>	0,198	86,5	*** 0,136	71,6	* 0,056	44,8
	lot témoin	0,229		0,190		0,125	
D	lot <i>in ovo</i>	0,216	102,9	0,140	103,7	*** 0,062	80,5
	lot témoin	0,210		0,137		0,077	
B	lot <i>in ovo</i>	0,211	95,9	* 0,108	77,7	* 0,100	59,9
	lot témoin	0,220		0,228		0,167	
H	lot <i>in ovo</i>	0,148	88,1	0,160	98,8	** 0,114	70,8
	lot témoin	0,168		0,162		0,161	
I	lot <i>in ovo</i>	0,212	98,1	0,189	95,0	0,117	100,0
	lot témoin	0,216		0,199		0,117	
E	lot <i>in ovo</i>	0,235	107,3	0,182	85,4	0,119	70,8
	lot témoin	0,219		0,213		0,168	
A	lot <i>in ovo</i>	*** 0,156	81,3	0,171	93,4	* 0,092	61,7
	lot témoin	0,192		0,183		0,149	
F bis	lot <i>in ovo</i>	0,222	132,9	0,174	87,9	0,101	91,8
	lot témoin	** 0,167		0,198		0,110	
D bis	lot <i>in ovo</i>	0,272	110,1	0,272	122,0	0,119	170,0
	lot témoin	0,247		0,223		0,070	
m	lot <i>in ovo</i>	0,207	0,0	0,175	97,2	*** 0,099	78,6
	lot témoin	0,207		0,180		0,126	
σ	lot <i>in ovo</i>	0,036		0,046		0,032	
	lot témoin	0,026		0,030		0,035	

(a) : T = lot témoin, et % T = $\frac{\text{BBR du lot } in\ ovo}{\text{BBR du lot témoin}} \times 100$

* : $p \leq 0,001$

** : $0,001 < p \leq 0,01$ *** : $0,01 < p \leq 0,05$

**Tableau II : Rapport poids de la bourse de Fabricius
• sur poids du corps (Bursal Body Ratio) par site**

- Semaine 3

-Les BBR sont plus faibles pour les lots *in ovo* dans 6 sites. Cette différence est significative pour le site A ($p=0,017$).

-Dans le site F bis, les BBR sont significativement plus faibles dans le lot témoin ($p=0,006$).

-Quand tous les sites sont rassemblés, aucune différence n'apparaît entre le groupe vacciné *in ovo* et le groupe témoin (moyenne BBR = 0,207 dans les 2 groupes).

- Semaine 4

-Les BBR sont plus faibles pour les lots *in ovo* dans 7 sites. Cette différence est significative pour 2 sites : B ($p < 0,001$) et F ($p = 0,003$).

-Dans le site C, les BBR sont significativement plus faibles dans le lot témoin ($p = 0,008$).

-Pour tous les sites, la moyenne BBR de la 4^e semaine est plus faible dans le groupe vacciné *in ovo* (moyenne=0,175), que dans le groupe témoin (moyenne=0,180), cependant cette différence n'est pas significative.

- Semaine 5

Les BBR des lots *in ovo* sont plus faibles dans 8 sites. Cette différence est significative pour 5 sites : H ($p = 0,003$), A ($p < 0,001$), B ($p < 0,001$), D ($p = 0,049$) et F ($p < 0,001$). Pour tous ces sites, la moyenne du BBR de la semaine 5 est significativement plus faible ($p = 0,015$) dans le groupe vacciné *in ovo* (moyenne = 0,099), que dans le groupe témoin (moyenne = 0.126).

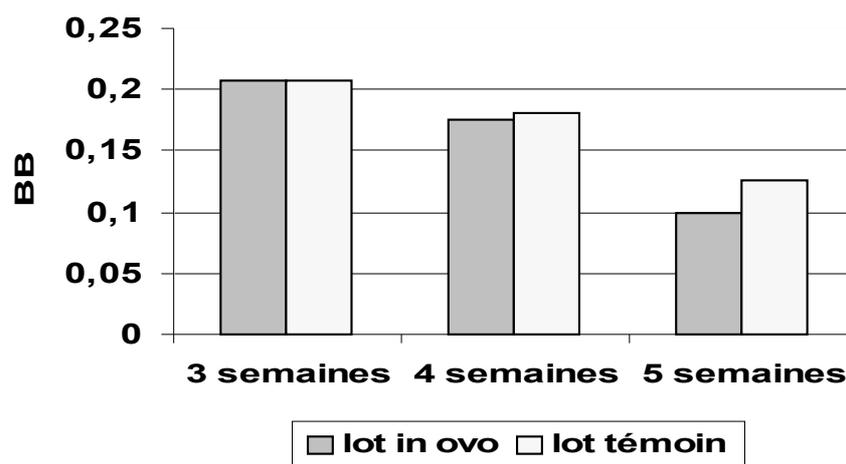


Figure 1 : Moyenne arithmétique des rapports poids de la bourse de Fabricius sur poids du corps par groupe de traitement

2.1.2. Sérologie

Site		1 jour		3 semaines			4 semaines			5 semaines			abattage			
		<i>m</i>	σ	<i>m</i>	σ	séro+	<i>m</i>	σ	séro+	<i>m</i>	σ	séro+	<i>m</i>	σ	séro+	Âge
C	lot <i>in ovo</i>	5 708	2 167	0	0	0	0	182	1	667	1 044	17	ND	ND	ND	ND
	lot témoin	6 220	1 977	0	0	0	2	347	3	459	1 148	16	ND	ND	ND	ND
F	lot <i>in ovo</i>	4 117*	1 173	2	266	3	5***	721	5	2 079*	658	20	2047*	730	20	37

	lot témoin	5 630	1 549	0	141	1	0	0	0	3	743	4	5	1045	5	44
D	lot <i>in ovo</i>	5 646	1 417	0	306	1	0	0	0	75	1 008	11 (a)	2782	768	20	40
	lot témoin	5 321	1 670	0	0	0	1	287	2	72	1 085	11 (a)	2074	845	20	39
B	lot <i>in ovo</i>	5 278 (a)	1 317	2	256	3	0	155	1 (a)	30 *	1 233	9	1660 *	1346	18 (a)	36
	lot témoin	5 211 (a)	1 483	0	0	0	0	0	0 (a)	0	0	0	0	173	1	37
H	lot <i>in ovo</i>	5 032	1 691	0	0	0 (a)	0	0	0 (a)	2	760	3	2357	700	20	39
	lot témoin	4 321 (a)	1 444	0	124	1	1	1124	2 (a)	0	0	0	ND	ND	ND	ND
I	lot <i>in ovo</i>	6 044	1 267	1	215	2	5	437	5 (a)	18	1 628	8	ND	ND	ND	ND
	lot témoin	6 320 (a)	1 466	3	301	4	0	138	1	22	1 104	9	ND	ND	ND	ND
E	lot <i>in ovo</i>	5 009 (b)	1 915	5	314	5 (a)	2	862	3 (a)	0	0	0	ND	ND	ND	ND
	lot témoin	5 297 (a)	1 661	18	381	9	0	0	0 (a)	0	0	0 (a)	ND	ND	ND	ND
A	lot <i>in ovo</i>	4 947 (a)	1 823	0	144	1	0	428	1 (b)	9	767	6 (a)	ND	ND	ND	ND
	lot témoin	4 438 (a)	2 407	3	447	4	1	545	2 (b)	1	225	2 (a)	ND	ND	ND	ND
F bis	lot <i>in ovo</i>	4 774	1 776	0	0	0 (a)	0	671	1	63 ***	1 075	11 (a)	1346	850	19	40
	lot témoin	5 039	1 452	0	0	0 (a)	0	181	1	3	454	4 (a)	1988	806	20	40
D bis	lot <i>in ovo</i>	4 203	2 076	0	0	0	0	0	0 (a)	46 ***	820	11	3081	399	19 (a)	40
	lot témoin	4 357	1 452	0	0	0	1	395	2 (a)	273	1 326	15	2840	493	19 (a)	40

séro+ : nombre de séropositifs sur 20 prises de sang sauf :

(a) : 19 prises de sang (b) : 18 prises de sang

* : $p \leq 0,001$

** : $0,001 < p \leq 0,01$

*** : $0,01 < p \leq 0,05$

ND : non disponible

m=moyenne, σ = écart type

Tableau III : Moyenne arithmétique des titres sérologiques IBD par site

Le détail des sérologies par site est fourni en annexe D dans les tableaux 1 à 10.

- 1 jour, anticorps d'origine maternelle (AcM)

-Tous les poussins d'1 jour prélevés ont des AcM pour l'IBD, avec une moyenne géométrique des titres d'AcM comprise entre 4 117 et 6 320 (moyenne générale 5 442).

-Il n'y a pas de différence significative entre les 2 lots d'un même site, sauf pour le site F, dans lequel les AcM sont significativement plus élevés dans le lot témoin.

-Quand les AcM de tous les sites sont rassemblés, aucune différence significative n'apparaît entre les 2 groupes de traitements.

- Semaine 3

-Une réponse sérologique n'est détectée que sur quelques poulets des 2 groupes de traitement (6 lots *in ovo*, et 6 lots témoins) : le nombre d'animaux séropositifs est compris entre 1/20 et 9/20 dans les lots répondant. Aucune réponse sérologique n'est observée dans les 3 sites C, F bis et D bis. Aucune différence significative de la moyenne géométrique des titres d'anticorps entre les lots de traitement n'est apparue à l'intérieur d'un même site ou quand tous les résultats sont compilés.

- Semaine 4

-Le nombre d'animaux positifs est compris entre 1/20 et 5/20 dans les lots répondant.

-Aucune différence significative de la moyenne géométrique des titres en anticorps entre les lots n'apparaît à l'intérieur d'un site, sauf pour le site F dans lequel 5 animaux montrent une réponse sérologique dans le lot vacciné *in ovo*, alors qu'aucune réponse n'est observée dans le lot témoin.

-Aucune différence significative de la moyenne géométrique des titres d'anticorps entre les groupes n'apparaît quand tous les résultats sont compilés.

-Dans 5 sites (F, B, I, E et F bis), le nombre d'animaux répondant dans les lots *in ovo* est le même ou plus élevé que dans les lots témoins.

- Semaine 5

-La réponse sérologique est augmentée dans les 2 groupes de traitement, sauf pour E (dans les 2 lots) et B (lot témoin), dans lesquels aucun animal ne présente d'anticorps IBD. Sur le site A, le nombre d'animaux séropositifs du lot témoin est le même qu'en semaine 4 (2 animaux).

-Le nombre d'animaux séropositifs dans les lots répondant est compris entre 3/20 et 20/20 dans les lots *in ovo* et de 2/19 à 16/20 pour les lots témoin.

-Dans 8 sites, la moyenne géométrique des titres en anticorps et le nombre d'animaux répondants sont plus hauts dans les lots *in ovo*. Cette différence est significative pour 3 sites (F, B et F bis). -Dans 1 site, la réponse sérologique est significativement plus forte dans le lot témoin (D bis).

-Quand tous les sites sont compilés, la réponse sérologique est significativement plus forte dans le groupe *in ovo* ($p < 0,001$).

- Abattage

A l'abattoir, le sang n'est collecté que pour 6 sites. Pour le site H, les prises de sang ne sont réalisées que sur le lot vacciné *in ovo*.

Dans le groupe vacciné *in ovo*, tous les lots prélevés à l'abattoir montrent une réponse sérologique, le nombre de poulets séropositifs est compris entre 18/19 et 39/39, et la moyenne géométrique comprise entre 1 345,7 et 3 081,0.

Dans le groupe témoin, 2 lots présentent une faible réponse sérologique (F (5/20) et B (1/19)), alors que tous les animaux répondent dans les 3 autres lots (moyenne géométrique comprise entre 1 988,4 et 2839,9). Dans 4/6 sites utilisables pour la comparaison, les moyennes géométriques des titres sont plus fortes dans le groupe vacciné *in ovo*. Cette différence était significative pour 2 sites F et B. Dans 1 site (F bis), la réponse sérologique est légèrement supérieure dans le lot témoin, mais cette différence n'est pas significative.

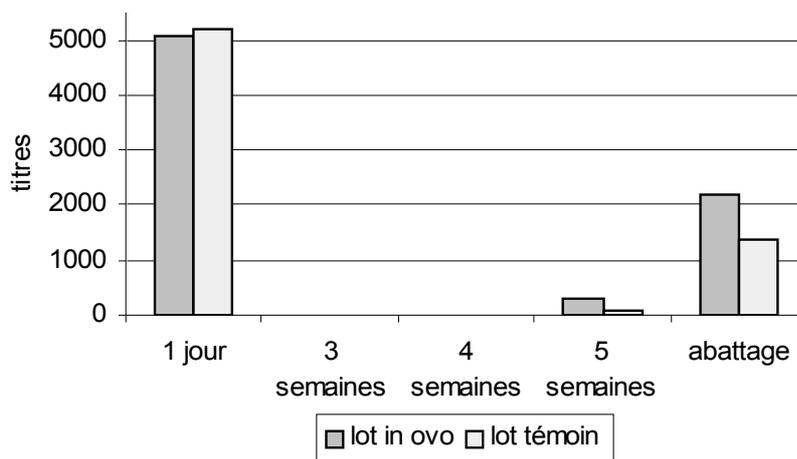


Figure 2 : Moyenne arithmétique des titres en anticorps IBD par groupe de traitement

Quand tous les sites sont compilés, la réponse sérologique est significativement plus forte dans le groupe vacciné *in ovo* ($p < 0.001$).

2.2. INNOCUITE

L'innocuité est étudiée selon les critères suivants: éclosabilité, examen macroscopique de la bourse de Fabricius, viabilité, performances zootechniques.

2.2.1. Eclosabilité

(Tableau I)

L'éclosabilité est comprise entre 74,5% et 88,0%.

Les pourcentages moyens par groupe de traitement étaient de 80,7% pour le groupe vacciné *in ovo* et 81,8% pour le groupe témoin. Cette différence est significative ($p = 0,013$).

2.2.2. Examen macroscopique de la bourse de Fabricius

site	3 semaines		4 semaines		5 semaines	
	lot <i>in ovo</i>	lot témoin	lot <i>in ovo</i>	lot témoin	lot <i>in ovo</i>	lot témoin
I	aucune lésion	aucune lésion	1 A et 1 H-	2 H-	2 A et 2 H-	4 A et 3 H-
H	5 H-	1 H- et 1 A	5 H- et 1 H	aucune lésion	aucune lésion	aucune lésion
F bis	aucune lésion	aucune lésion	1 H+	aucune lésion	10 A et 2 A+	6 A et 1 H+
F	1 A et 3 H-	1 H, 2 H- et 1 H--	1 A et 2 H-	1 A et 4 H-	8 A et 4 H et 1 A,H	1 A et 1 A,H et 1 A, H-
E	aucune lésion	aucune lésion	1 A et 2 H	aucune lésion	2 H- et 1 H+ et 1 A,H-	2 H-
D bis	aucune lésion	aucune lésion	1 H-	aucune lésion	aucune lésion	1 A et 3 H-
D	1 A	aucune lésion	aucune lésion	aucune lésion	5 A et 2 H-	4 A et 1 H et 2 H- et 1 A, H-
C	1 A et 1 A, H-	4 A	2 H-	1 A et 2 H- et 2 A,H-	aucune lésion	aucune lésion
B	1 A	aucune lésion	aucune lésion	3 H- et 1 H	2 H et 1 H-	1 H- et 1 H
A	aucune lésion	aucune lésion	aucune lésion	aucune lésion	1 A et 1 H et 1 A,H-	1 H

A = atrophie / A- : légère; A : modérée; A+ : sévère

H=hémorragie / H-- : très légère; H- : légère; H : modérée; H+ : sévère

Tableau IV : Observations macroscopiques de la bourse de Fabricius

- A 3 semaines, quelques lésions d'atrophie (modérées) et de légères hémorragies sont observées dans 5 sites. Seul 1 animal sur 4 présente ces lésions. Les 2 groupes de traitement et les 2 types de vaccination dans le groupe de témoin (invasif ou intermédiaire) sont concernés. Les lésions d'hémorragie n'évoquent pas des lésions typiques d'IBD.

- A 4 semaines, quelques lésions sont observées dans 9 sites (1 animal sur 5) dans les 2 groupes de traitement. Un animal dans 2 lots traités (E et F bis) présente des lésions hémorragiques importantes de la bourse. Les autres lésions observées sont des atrophies

modérées et des hémorragies légères à modérées. Ces lésions n'évoquent pas des lésions typiques d'IBD.

- A 5 semaines, des lésions sont observées dans 9 sites (1 animal sur 10) dans les 2 groupes. La grande majorité des lésions observées sont des atrophies. Un sur 2 animaux, dans 3 lots (E lot *in ovo*, D bis lot *in ovo* et F bis lot témoin) présente des lésions hémorragiques importantes de la bourse n'évoquant pas des lésions typiques d'IBD.

Aucune lésion d'œdème n'a été observée.

2.2.3. Viabilité

- Viabilité calculée à l'abattoir

Site	lot	Viabilité %
C	lot <i>in ovo</i>	93,2
	lot témoin	95,2
F	lot <i>in ovo</i>	92,6
	lot témoin	91,6
D	lot <i>in ovo</i>	92,0
	lot témoin	91,4
B	lot <i>in ovo</i>	94,5
	lot témoin	95,6
H	lot <i>in ovo</i>	92,5
	lot témoin	93,4
I	lot <i>in ovo</i>	95,0
	lot témoin	93,0
E	lot <i>in ovo</i>	92,3
	lot témoin	93,2
A	lot <i>in ovo</i>	91,4
	lot témoin	92,4
F bis	lot <i>in ovo</i>	93,9
	lot témoin	90,3
D bis	lot <i>in ovo</i>	95,7
	lot témoin	95,6
m	lot <i>in ovo</i>	93,5
	lot témoin	93,0
m sites IBD aiguë	lot <i>in ovo</i>	94,5
	lot témoin	93,3
m sites IBD subclinique	lot <i>in ovo</i>	92,9
	lot témoin	92,8
σ	lot <i>in ovo</i>	1,5
	lot témoin	1,7

Tableau V : Viabilité

La viabilité est comprise entre 90,3% et 95,7%. Elle est légèrement plus forte dans le groupe vacciné *in ovo* (93,5%) que dans le groupe témoin (93,0%), cependant cette différence n'est pas significative. La viabilité moyenne des sites à IBD aiguë est plus forte dans le groupe vacciné *in ovo*. Aucune différence n'apparaît entre les moyennes des sites à IBD subclinique.

- Mortalité pendant l'élevage

		<i>m</i>		<i>σ</i>	
		lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin
Mortalité hebdomadaire cumulée	7 jours	2,42	2,26	0,82	1,19
	14 jours	3,39	3,38	1,08	1,50
	21 jours	3,97	3,98	1,17	1,65
	28 jours	4,56	4,46	1,14	1,73
	35 jours	5,33	5,29	1,17	1,61
Résultats techniques	I int	*2 275,7	2 197,7		
	IC	1,95	1,99		
	IC corrigé	1,94	1,96		
	Pm	1,83	1,87		
	âge abattage	38,4	39,5		
	GMQ	47,6	47,5		
	% de saisies	1,46	1,47		

I int : index intégrateur

IC : indice de consommation

Pm : poids moyen à l'abattage

GMQ : gain moyen quotidien

* : p = 0,04

Tableau VI : Mortalité hebdomadaire et résultats techniques des groupes de traitement

Aucune différence significative sur la mortalité cumulée n'est observée.

2.2.4. Performances zootechniques

- Paramètres fournis par l'abattoir

Site	Groupe	âge à l'abattoir	nombre mis en place	Viabilité %	Pm	GMQ	IC	IC corrigé	Taux de saisies %	I int
C	lot in ovo	38	32 640	95,2	1,74	45,8	2,02	2,04	1,00	2 149
	lot témoin	39	32 640	93,0	1,78	45,6	2,02	2,03	2,50	2 112
F	lot in ovo	37	22 032	92,6	1,76	47,0	1,96	1,98	1,93	2 242
	lot témoin	40	33 558	91,6	1,95	48,0	1,98	1,92	1,03	2 247
D	lot in ovo	40	32 640	92,0	1,86	46,0	2,01	1,99	2,14	2 104
	lot témoin	39	26 928	91,4	1,88	48,0	2,11	2,08	1,62	2 059
B	lot in ovo	36	26 400	94,5	1,78	49,0	1,89	1,90	1,35	2 456
	lot témoin	37	32 000	95,6	1,76	48,0	1,89	1,91	1,04	2 409
E	lot in ovo	39	12 240	92,3	2,01	52,0	1,95	1,87	1,97	2 440
	lot témoin	39	12 240	93,2	2,06	53,0	1,96	1,86	1,30	2 507
D bis	lot in ovo	40	23 052	95,6	1,87	47,0	1,95	1,92	1,07	2 284
	lot témoin	40	27 132	95,7	1,79	45,0	1,92	1,92	1,23	2 226
F bis	lot in ovo	40	26 520	93,9	1,86	46,0	1,92	1,90	1,14	2 263
	lot témoin	40	18 360	90,3	1,76	44,0	1,99	2,01	1,29	2 013
I	lot in ovo	36	32 640	95,0	1,60	45,0	1,92	2,00	0,86	2 209
	lot témoin	42	26 520	93,0	1,99	48,0	2,20	2,12	1,49	2 007
A	lot in ovo	39	24 480	91,4	1,92	49,0	1,94	1,89	1,41	2 321
	lot témoin	40	23 460	92,4	1,89	47,0	1,89	1,85	2,15	2 123
H	lot in ovo	39	22 500	92,5	1,90	49,0	1,98	1,94	1,70	2 289
	lot témoin	39	21 200	93,4	1,87	47,8	1,97	1,94	1,08	2 274
m	lot in ovo	38,4	25514,4	93,5	1,83	47,6	1,95	1,94	1,46	2275,7
	lot témoin	39,5	25403,8	93,0	1,87	47,4	1,99	1,96	1,47	2197,7
σ	lot in ovo	1,6	6312,9	1,5	0,11	2,1	0,04	0,06	0,45	112,1
	lot témoin	1,3	6776,3	1,7	0,10	2,4	0,10	0,09	0,49	167,3

Pm : poids moyen

GMQ : Gain Moyen Quotidien

IC : Indice de consommation

I int : Index intégrateur

Tableau VII : Résultats techniques de l'abattoir par site

Aucune différence significative entre les groupes de traitement n'apparaît pour les paramètres zootechniques fournis par l'abattoir, sauf pour le paramètre clef –l'index de l'intégrateur-

pour lequel la moyenne est significativement plus forte ($p = 0,04$) dans le groupe vacciné *in ovo* (2 275,7) que dans le groupe témoin (2 197,7).

Bien que sans différence significative, les paramètres suivants sont légèrement améliorés dans le groupe vacciné *in ovo* : l'indice de consommation, l'indice de consommation corrigé et le gain moyen quotidien.

- Poids corporels vifs à 3, 4, et 5 semaines d'âge

Site		3 semaines		4 semaines		5 semaines	
		<i>m</i>	σ	<i>m</i>	σ	<i>m</i>	σ
C	lot <i>in ovo</i>	714,5	68,3	938,2	99,7	1 598,3	138,7
	lot témoin	679,5	117,8	1 070,3	174,0	1 607,9	216,8
F	lot <i>in ovo</i>	673,4	96,5	1 068,5	143,2	1 479,2	221,2
	lot témoin	717,7	81,0	1 049,6	183,8	1 394,8	250,0
D	lot <i>in ovo</i>	** 692,5	51,3	1 146,2	148,9	1 650,9	171,0
	lot témoin	636,2	55,3	1 113,7	94,6	1 596,6	152,9
B	lot <i>in ovo</i>	* 717,3	57,8	* 1 199,5	85,4	1 710,1	157,4
	lot témoin	654,7	49,1	(a) 1 036,1	102,6	1 671,8	179,7
H	lot <i>in ovo</i>	648,9	103,3	1 095,5	162,0	*** 1 492,2	173,4
	lot témoin	693,7	85,3	1 139,6	114,4	1 381,3	170,8
I	lot <i>in ovo</i>	679,3	68,4	1 099,1	86,5	1 482,6	171,2
	lot témoin	700,1	76,8	1 147,6	140,1	1 543,3	167,8
E	lot <i>in ovo</i>	704,9	59,4	1 270,9	134,4	1 715,8	137,4
	lot témoin	695,0	63,3	1 310,6	142,6	(a) 1 639,1	159,6
A	lot <i>in ovo</i>	* 672,4	52,1	*** 1 214,2	18,0	** 1 760,0	214,2
	lot témoin	786,1	75,9	1 127,4	123,2	1 550,8	171,6
F bis	lot <i>in ovo</i>	605,2	97,6	888,6	130,9	1 215,7	200,7
	lot témoin	546,0	101,8	859,1	114,9	1 220,2	173,4
D bis	lot <i>in ovo</i>	649,6	61,1	1 123,4	99,0	1 502,3	192,7
	lot témoin	649,8	53,5	1 129,4	90,1	1 428,3	144,6
<i>m et σ</i>	groupe <i>in ovo</i>	675,8	79,5	1 108,90	161,1	*** 1 560,7	233,6
	groupe témoin	675,9	97,0	1 098,7	167,9	1 502,7	223,0

* : $p \leq 0,001$

** : $0,001 < p \leq 0,01$

*** : $0,01 < p \leq 0,05$

(a) : sur 19 poulets (1 mort pendant le transport)

Tableau VIII : Poids corporels vifs des animaux euthanasiés (g)

A 3 semaines d'âge, les moyennes des poids corporels étaient significativement supérieures dans le groupe vacciné *in ovo* dans 2 sites (D et B) et dans le groupe témoin pour un site (A). Cependant, il n'y a pas de différence significative entre les groupes de traitement quand tous les sites sont considérés.

A 4 semaines d'âge, le poids corporel est significativement supérieur dans les 2 sites B et A, pour lesquels la différence observée à 3 semaines est inversée. On n'observe aucune différence significative pour les autres sites ou quand tous les sites sont compilés.

A 5 semaines d'âge, la moyenne des poids corporels pour les groupes vaccinés *in ovo* est significativement supérieure à celle du groupe témoin ($p = 0.038$). Une différence significative est aussi observée individuellement pour les sites A ($p = 0.002$) et H ($p = 0.049$).

- Poids corporels vifs enregistrés par l'éleveur

		10 jours	15 jours	20 jours	25 jours	30 jours	35 jours
m	groupe <i>in ovo</i>	234,8	420,8	668,0	970,0	1315,0	1599,5
	groupe témoin	239,8	409,8	661,5	865,5	1 279,0	1 557,1
σ	groupe <i>in ovo</i>	16,5	24,9	39,2	71,2	132,2	70,5
	groupe témoin	25,5	18,4	34,2	273,1	118,7	106,7

Tableau IX : Poids corporels vifs des animaux dans les élevages (g)

Aucune différence significative entre les groupes de traitement n'est observée pour les pesées réalisées par l'éleveur.

Conclusion :

Dans cette étude, 2 critères évaluent l'efficacité des vaccins, le rapport poids de la bourse de Fabricius sur poids du corps (BBR) et la réponse sérologique. Le BBR est globalement inférieur pour le groupe *in ovo*. La réponse sérologique n'apparaît qu'à partir de la 5e semaine dans les 2 groupes de traitement et elle est plus importante dans les lots *in ovo*.

L'innocuité est mesurée au couvoir -l'éclosabilité est inférieure de 1,1% pour les lots *in ovo*-, à l'élevage -la mortalité et poids vifs ne sont pas différents entre les 2 groupes-, au laboratoire -les poids vifs et les lésions de la bourse ne sont pas différentes entre les 2 groupes- et à l'abattoir -la viabilité est meilleure pour les lots *in ovo* placés dans des sites classés IBD aiguë et l'index de l'intégrateur est amélioré pour le groupe *in ovo*.

3. DISCUSSION

3.1. DISCUSSION DES MATERIELS ET METHODES

3.1.1. Sélection des parquets de reproducteurs

- Il n'y a pas de différence d'origine entre les œufs de 2 lots du même site, sauf pour le site A, pour lequel les œufs provenaient de 2 parquets de reproducteurs dans le lot témoin (K et L) et d'un seul dans le lot vacciné *in ovo* (K). Cependant ces 2 parquets de reproducteurs ont reçu le même programme de vaccination et la différence entre leur âge est seulement de 8 semaines. Seuls 8900 œufs, sur un total de 22 950 mis en place dans le lot témoin, proviennent du parquet de reproducteur L.
- Le site G est exclu après l'injection *in ovo*. En effet, en raison d'une mauvaise qualité des œufs incubés (erreur de stockage avant l'incubation), l'éclosabilité des 2 lots (*in ovo* et témoin) est très faible. Ainsi, le jour de l'éclosion et de la livraison chez l'éleveur, le nombre de poussins des 2 lots n'est pas suffisant pour remplir les bâtiments. Ne pouvant pas imposer des pertes économiques à l'éleveur, le couvoir décide d'ajouter aux lots expérimentaux des poussins non vaccinés, à la fois dans le groupe traité *in ovo* et dans le groupe témoin. Les poussins non vaccinés *in ovo* sont donc mis en place et séparés des poussins vaccinés *in ovo* par un grillage. La séparation n'est pas efficace et les 2 lots se mélangent.
- Les taux d'anticorps d'origine maternelle observés dans cette étude sont hauts et homogènes. Aucune différence significative des titres moyens en AcM des groupes de traitements n'est apparue, ce qui confirme la répartition aléatoire des œufs. Cependant, pour le site F, une différence significative des AcM entre les 2 lots est observée, le lot *in ovo* est légèrement inférieur au lot témoin. Cependant, ces 2 lots F sont comme les autres lots de l'étude avec des taux d'AcM élevés (>4000) et cette petite différence n'a donc pas de conséquence sur l'étude.

3.1.2. Critères d'évaluation de l'efficacité et de l'innocuité

Certains critères choisis mesurent à la fois l'efficacité et l'innocuité du vaccin.

Le rapport poids de la bourse de Fabricius sur poids du corps (BBR) donne ces 2 informations: le vaccin est efficace s'il y a une répllication du virus vaccinale dans la bourse entraînant une diminution du BBR. Cependant si le BBR est très petit, c'est aussi un signe de destruction totale des follicules de la bourse de Fabricius, ce qui arrive si l'innocuité du vaccin est mauvaise et que le virus vaccinal est trop virulent. Dans ce cas la modification des bourses est visible à l'examen macroscopique, critère choisi pour étudier l'innocuité. Les bourses étaient de plus conservées dans du formol pour analyse histologique ultérieure en cas de problème.

La viabilité et les autres paramètres zootechniques peuvent être considérés comme des facteurs d'efficacité -si le vaccin n'est pas efficace, la maladie de Gumboro sous forme aiguë entraîne des mortalités- mais aussi des facteurs d'innocuité car le virus vaccinal "intermédiaire plus" pourrait entraîner une déplétion de la bourse et donc une immunodépression favorisant l'apparition de maladies secondaires.

3.2. DISCUSSION DES RESULTATS

3.2.1. Efficacité

L'efficacité est évaluée par le rapport poids de la bourse de Fabricius sur poids du corps (Bursal Body Ratio BBR) et sur les résultats sérologiques.

- 3 semaines d'âge

Les BBR sont plus faibles pour les lots *in ovo* dans 6 sites. Bien que cette différence ne soit significative que dans 1 site, ceci pourrait indiquer que pour 6 lots sur 10 la réplication du virus dans la bourse commence plus tôt dans le groupe vacciné *in ovo*.

A cet âge, une réponse sérologique IBD est uniquement détectée sur quelques animaux, soit du groupe vacciné *in ovo* soit du groupe témoin et aucune différence significative entre les 2 groupes n'apparaît. Cependant, les anticorps apparaissent habituellement après la diminution du BBR induit par la réplication virale.

- 4 semaines d'âge

Les BBR sont plus faibles pour les lots vaccinés *in ovo* dans 7 sites. Cette différence est significative pour 2 sites. Ceci confirme la réplication précoce du virus dans la bourse pour les lots vaccinés *in ovo*.

Dans 5 sites, le nombre d'animaux répondants dans les lots *in ovo* est le même ou plus fort que dans les lots témoins correspondants. Bien que ceci ne soit pas associé avec une différence significative en titre d'anticorps, il pourrait aussi indiquer que la réponse sérologique commence plus tôt dans le groupe vacciné *in ovo*.

La réponse sérologique est rare dans les 2 groupes de traitement, ce qui peut être mis en relation avec le taux très élevé d'anticorps d'origine maternelle observé dans cette étude. Quand le niveau d'anticorps maternels est élevé à l'âge de 1 jour, la diminution de ces AcM

est lente, ce qui retarde la réplication du virus vaccinal dans la bourse et donc retarde la production d'anticorps vaccinaux.

- 5 semaines d'âge

Les BBR des lots *in ovo* sont inférieurs dans 8 sites. Cette différence est significative pour 5 sites individuellement, et pour l'analyse générale. Ceci confirme la réponse précoce à la vaccination des lots vaccinés *in ovo*.

La moyenne géométrique des titres ELISA et le nombre d'animaux séropositifs sont plus forts dans les lots *in ovo* pour 8 sites. Cette différence est significative pour 3 sites et pour l'ensemble des sites réunis. La réponse sérologique est augmentée dans les 2 groupes comparés à la semaine 4, sauf pour 3 lots témoins et 1 lot *in ovo*.

- abattage

Tous les lots prélevés du groupe *in ovo* montrent une bonne réponse sérologique.

Dans le groupe témoin, 3 lots montrent une réponse sérologique complète alors que 2 lots présentent un faible niveau de réponse sérologique. Quand tous les sites sont compilés, la réponse sérologique est significativement plus forte dans le groupe *in ovo*.

Conclusion sur l'efficacité de la réponse vaccinale

Une réponse à la vaccination IBD est mesurée par la détection de la réplication du virus vaccinal dans la bourse et donc par la diminution du BBR.

Dans cette étude, une diminution du BBR arrive plus précocement dans les lots vaccinés avec BURSAMUNE® *in ovo*, particulièrement pour les sites avec de l'IBD subclinique.

En général, une diminution du BBR et le développement des titres en anticorps suivent un schéma comparable.

Comme le taux d'anticorps maternels est très élevé, la réponse sérologique vaccinale de tous les individus apparaît tardivement dans les 2 groupes (à environ 5 semaines d'âge).

Cependant, la réponse était meilleure dans les lots vaccinés avec BURSAMUNE® *in ovo*.

Aucune différence de réponse sérologique n'apparaît entre les sites avec de l'IBD aiguë ou subclinique. Ceci pourrait indiquer que le vaccin BURSAMUNE® *in ovo* induit une protection contre l'IBD même en présence de souches virulentes d'IBDV, et que la vaccination BURSAMUNE® *in ovo* peut être utilisée sans connaître au préalable la forme de la maladie sur le terrain.

Dans 3 lots témoins, aucune réponse sérologique n'est observée à 5 semaines d'âge. Ceci peut être relié à un taux élevé d'anticorps maternels, mais peut être aussi attribué à un manque de précision dans le dosage du vaccin quand il est administré dans l'eau de boisson, dans le choix de l'âge de vaccination et/ou dans le nombre d'animaux vaccinés avec succès à l'intérieur du lot.

Les paramètres techniques décrits dans les paragraphes suivants donnent aussi une indication sur la qualité de la protection contre l'IBD.

3.2.2 Innocuité

3.2.2.1. Eclorabilité

Une diminution significative de 1,1 points d'éclorabilité est observée dans le groupe vacciné *in ovo*, comparé au groupe témoin. Cette différence ne semble être reliée ni à l'injection *in ovo*, ni au vaccin, pour les raisons suivantes :

- Plusieurs observations réalisées pendant le processus d'injection montrent que la manipulation des œufs par le personnel du couvoir est délicate dans le cadre de l'essai : après la sortie des incubateurs, plusieurs chariots d'œufs sont en attente devant la machine à injecter. Au lieu de transférer les chariots les uns après les autres, les chariots sont sortis à l'avance et stockés dans la salle d'injection, pour gagner du temps pendant le transfert des œufs (les injections sont habituellement réalisées à la fin de la journée de travail, et représentent un travail supplémentaire pour les employés). Pendant cette période de stockage, les œufs sont conservés à température ambiante, entre 10 et 60 minutes. Une diminution de la température des œufs entre l'incubateur et l'éclosoir (température de 34°C) peut entraîner une baisse d'éclorabilité.
- Avant l'injection, l'enlèvement des œufs sales (souvent contaminés par des *Pseudomonas spp*) des casiers qui doivent entrer dans la machine à injecter n'est pas régulièrement assuré par les employés. La présence de ces œufs sales peut entraîner une baisse de l'éclorabilité, à cause de la contamination de la machine à injecter, des autres œufs du même chariot et enfin de l'éclosoir.

De plus, avant l'injection, la position des œufs sur le chariot est parfois inversée : chambre à air de l'œuf sur le bas ou oblique. Quand cette mauvaise position est remarquée par les

employés, ils la corrigent. Cependant, encore une fois, ceci n'est pas régulièrement fait. Quand les œufs ne sont pas dans la bonne position, les aiguilles d'injection peuvent blesser les embryons.

- Dans un essai d'éclosabilité préliminaire réalisé dans le même couvoir, les œufs à injecter et les non injectés sont manipulés exactement dans les mêmes conditions (même temps de stockage, même manipulation des œufs, même éclosoir). Aucune différence significative d'éclosabilité n'est apparue entre les œufs non injectés, les œufs injectés uniquement avec du diluant et les œufs injectés avec le vaccin BURSAMUNE® *in ovo*.

- Dans un essai réalisé en Hollande avec le vaccin BURSAMUNE® *in ovo* dans différents couvoirs, l'éclosabilité de 8 lots (4 injectés *in ovo* et 4 témoins), incluant 13 000 à 21 000 poussins, a été comparée. Aucune diminution de l'éclosabilité n'a été observée.

Aucune conclusion ne peut donc être donnée sur les résultats d'éclosabilité de cet essai.

3.2.2.2. Examen macroscopique de la bourse de Fabricius

Le pourcentage de bourses de Fabricius présentant au moins une lésion est très bas (0/20 à 10/20). La majorité des lésions enregistrées sont des lésions d'atrophie, ce qui est compatible avec la diminution du BBR et donc avec l'efficacité du produit. Seules des lésions isolées d'hémorragies sévères ont été observées (1 à 2 animaux, dans 1 à 3 lots). Les 2 groupes de traitement sont concernés. On peut donc conclure que les lésions ne sont pas liées à la vaccination. De plus, les quelques lésions observées n'évoquent pas une infection avec le virus sauvage d'IBD.

Enfin, on peut conclure que les méthodes de vaccination utilisées dans cet essai sont sans danger, et que la protection contre les infections sauvages est efficace.

3.2.2.3. Viabilité

A l'abattoir, la viabilité des poulets de chair vaccinés *in ovo* est comparable à celle observée dans les lots témoins. La viabilité observée dans cet essai est similaire à la viabilité des 3 derniers lots de chaque bâtiment. Dans les sites avec de l'IBD aiguë, la viabilité moyenne des

lots vaccinés *in ovo* est légèrement supérieure à celle des lots témoins, ce qui pourrait confirmer que l'efficacité du vaccin BURSAMUNE® *in ovo* est au moins égale à celle des vaccins conventionnels de souche invasive.

La mortalité cumulée enregistrée toutes les semaines augmente progressivement pendant la période d'élevage. Aucun pic de mortalité n'a été observé dans aucun des lots, ce qui confirme l'efficacité des 2 méthodes de vaccination et ce qui montre que la protection contre les virus sauvages potentiellement virulents est obtenue dans cette étude.

Le vaccin BURSAMUNE® *in ovo* est sans danger pour les poulets de chair.

3.2.2.4. Paramètres zootechniques

- A l'abattage, le paramètre clé utilisé par l'intégrateur pour mesurer les résultats techniques d'un lot de poulets de chair (index intégrateur) est significativement amélioré avec le vaccin BURSAMUNE® *in ovo*. L'index intégrateur est une combinaison de la viabilité, de l'indice de consommation et du gain moyen quotidien. Ces paramètres individuels sont légèrement améliorés avec le vaccin BURSAMUNE® *in ovo*, cependant ces différences ne sont pas significatives. Leur combinaison conduit à une différence significative.

- Le pourcentage de saisies n'est pas différent entre les 2 groupes de traitement, ce qui montre que la vaccination *in ovo* n'affecte pas la qualité des poulets de chair. Aucune conclusion ne peut être portée sur l'âge et le poids d'abattage, car ces paramètres dépendent beaucoup du besoin des abattoirs, déterminé par la demande du marché (poulets lourds ou légers).

Comme les lots *in ovo* ont des performances au moins identiques sinon meilleures que les lots témoins, il est possible de conclure que le vaccin BURSAMUNE® *in ovo* n'est pas nocif et prévient les diminutions de résultats zootechniques pouvant être occasionnées par une infection possible avec un virus sauvage d'IBD.

- Le poids corporel moyen enregistré à 3 et 4 semaines d'âge n'est pas différent entre les lots *in ovo* et les lots témoins. A 5 semaines d'âge, les poids corporels sont significativement supérieurs dans les lots vaccinés avec BURSAMUNE® *in ovo*. Ces résultats confirment les résultats fournis par l'abattoir et à la fois l'innocuité et l'efficacité du vaccin BURSAMUNE® *in ovo*.

- Les pesées réalisées par l'éleveur tous les 5 jours montrent que les courbes de croissance sont conformes à celles prévues par le fournisseur de la souche de poulet de chair. Aucune différence entre les groupes de traitement n'apparaît, même à 5 semaines d'âge. Cependant, seules 10 données par groupe de traitement (1 par lot) ont été utilisées pour ce critère alors que pour les informations sur les poids corporels décrites dans le paragraphe précédent, 200 données par groupe de traitement (20 par lot) étaient incluses dans l'analyse.

Conclusion sur l'innocuité du BURSAMUNE® *in ovo*

La diminution de l'éclosabilité mise en évidence dans cet essai s'explique par des problèmes d'organisation au moment du transfert et de l'injection *in ovo* dans un couvoir qui n'en avait pas l'habitude. Le vaccin n'a pas causé de lésions anormales de la bourse de Fabricius et les résultats zootechniques sont supérieurs ou égaux dans le groupe vacciné *in ovo*. Le vaccin composé d'un complexe anticorps-antigène peut donc, aux vues de ces résultats, être injecté à des embryons de 18 jours d'incubation avec l'INOVOJECT®.

CONCLUSION

La vaccination avec le vaccin BURSAMUNE® *in ovo* induit une répllication du virus dans la bourse, ce qui se traduit par une diminution du rapport poids de la bourse de Fabricius sur poids du corps (BBR). Cette répllication est suivie par une réponse sérologique. Aucun signe de la maladie de Gumboro aiguë ou de conséquence économique de la maladie subclinique n'a été observé dans les sites. Aux vues de ces résultats, on peut conclure que le vaccin BURSAMUNE® *in ovo* est efficace pour prévenir la maladie de Gumboro sur le terrain. De plus, aucune différence sur les résultats zootechniques et donc économiques n'est apparue au cours de cet essai (le vaccin est donc inoffensif pour les animaux) sauf pour l'index de l'intégrateur qui est amélioré dans le groupe *in ovo*. Cet index, utilisé pour classer les élevages selon leurs performances techniques, est primordial dans le choix d'un programme vaccinal. Son amélioration a suffi pour convaincre l'intégrateur de généraliser l'emploi du BURSAMUNE® *in ovo* dans ses élevages. Aucune conclusion ne peut être tirée s'agissant des effets du vaccin BURSAMUNE® *in ovo* sur l'éclosabilité, à partir de cette étude, les conditions de transfert n'ayant pas été totalement respectées.

La technique de vaccination *in ovo* permet une vaccination de lots entiers de poussins, avec une dose précise de vaccin. Cette voie de vaccination offre donc une alternative aux méthodes dans l'eau de boisson, dépendantes de nombreux facteurs. Cependant, les contraintes techniques sont déplacées de l'élevage vers le couvoir : l'injection *in ovo* nécessite une installation particulière de la machine dans le couvoir et un personnel formé. Dans plusieurs pays, il est maintenant possible de vacciner en une seule fois, *in ovo*, contre la maladie de Marek, la maladie de Gumboro et la maladie de Newcastle (Poulvac ovoline ND® de Fort Dodge). De nouvelles technologies sont développées par la société Embrex comme la détection au transfert des embryons vivants par l'émission de chaleur ou leur sexage.

Il existe d'autres vaccins en développement utilisant la technique du VNF® (virus neutralising factor). Ainsi, un vaccin *in ovo* contre la maladie de Newcastle est en cours d'enregistrement aux Etats Unis, en Afrique du Sud, en Israël et au Japon. D'autres vaccins pour les mammifères, chien et humains sont également à l'étude.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLAN W. H., FARAGHER J. T., CULLEN G. A. : Immunosuppression by the infectious bursal agent in chickens immunized against Newcastle disease. *Veterinary Record*, 1972, **90** : 511-512
2. ALLAN G. M., McNULTY M. S., CONNOR T. J., McCRACKEN R. M., McFERRAN J. B. : Rapid diagnosis of infectious bursal disease infection by immunofluorescence on clinical material. *Avian Pathology*, 1984, **13** : 419-427
3. BENTON W. J., COVER M. S., ROSENBERGER J.K. : Studies on the transmission of the infectious bursal agent of chickens. *Avian Disease*, 1967 , **11** : 430-438
4. BENTON W. J., COVER M. S., ROSENBERGER J.K. : Physico-chemical properties of the infectious bursal agent. *Avian Disease*, 1967, **11** : 438-445
5. BOX P. : Antibody profile of broiler breeders hens and their progeny immunized with bursal-derived or embryo-origin killed infectious bursal disease vaccine. *Proceeding of the 37th Western Poultry Disease Conference, Davis, California*, 1988, 21-24
6. CHEVILLE N. F. : Studies on the pathogenesis of gumboro disease in the bursa of Fabricius, spleen and thymus of the chicken. *American Journal of Pathology*, 1967, **51** : 527-551
7. COSGROVE A. S. : An apparently new disease of chickens avian nephrosis. *Avian Diseases*, 1962, **6** : 385-389
8. DA SIVA MARTINS N. R., MOCKETT A. P. A., COOK J. K. A. : The immunoglobulin M response in chicken serum to infectious bursal disease virus. *Avian Pathology*, 1992, **21** : 517-521

9. EDGAR S. A. : Infectious bursal disease (Gumboro disease) prevention and control. *10th Annual Poultry Health and Management Short Course, Clemson, South Carolina, 1966*, 93-98
10. ETERRADOSSI N. : Progrès dans le diagnostic et la prophylaxie de la maladie de Gumboro chez les volailles. *Office International des Epizooties*, 1995, 65-73
11. FARAGHER J. T., ALLAN W. H., CULLEN G. A. : Immunosuppressive effect of the infectious bursal disease agent in the chicken. *Nature New Biology*, 1972, **237** : 118-119
12. GAMBRIONE J. J. : Gumboro remains of economic Importance. *World Poultry*, 2000, **4 vol 16** : 43-45
13. GAMBRIONE J. J., CLOSSER J. : Efficacy of live vaccines against serologic subtypes of Infectious Bursal Disease Virus. *Avian Disease*, 1990, **34** : 7-11
14. GAMBRIONE J. J., EIDSON C. S., PAGE R. K., FLETCHER O. J., BARGER B. O., KLEVEN S. H. : Effect of infevtious bursal agent on the response of chickens to Newcastle disease and Marek' disease vaccination. *Avian Disease*, 1976, **20** : 534-544
15. GELENCZEI E. F., LASHER H. N. : Immunity response to cell-culture-propagated infectious bursal agent. Sterwin Laboratories, Inc (internal research report), 1969
16. GUITTET M., LE COQ H., PICAULT J. P., ETERRADOSSI N., BENNEJEAN G. : Safety of IBD vaccines : assessment of an acceptability threshold. *Develop. Biol. Standard.*, 1993, **79** : 147-152
17. HADDAD E. E., WHITFILL C. E., AVAKIAN A. P. : Efficacy of a novel infectious bursal disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. *Avian Disease*, 1997, **41** : 882
18. HEINE H. G., BOYLE D. B. : IBDV structural protein VP2 expressed by a fowlpox virus recombinant confers protection against disease in chickens. *Arch. Virol.*, 1993, **131** : 277-292

19. HIRAI K., FUNAKOSHI T., NAKAI T., SHIMAKURA S. : Sequential changes in the number of surface immunoglobulin-bearing B lymphocytes in infectious bursal disease virus-infected chickens. *Avian disease*, 1981, **25** : 484-496
20. HIRAI K., SHIMAKURA S., KAWAMOTO E., TAGUCHI F., KIM S. T., CHANG C. N. *et al.* : The immunodepressive effect of infectious bursal disease virus in chickens. *Avian disease*, 1974, **18** : 50-57
21. HITCHNER S. B. : Infectivity of infectious bursal disease virus for embryonating eggs. *Poultry science*, 1970, **49** : 511-516
22. IDE P. R., SCHULTE-NORDHOLT J. A., DEWITT W. F., SMITH J. D. : Broiler-breeder vaccination against infectious bursal disease and persistence of maternal antibody in progeny. *Canadian Veterinary Journal*, 1978, **19** :123-127
23. ISMAIL N. M., SAIF Y. M., WIGLE W. L., HAVENSTEIN G. B., JACKSON C. : Infectious Bursal Disease Virus Variant from commercial Leghorn pullets. *Avian Disease*, 1990, **34** :141-145
24. JACKWOOD D. H., SAIF Y. M. : Antigenic diversity of infectious bursal disease viruses. *Avian Disease*, 1987, **31** : 766-770
25. JEURISSEN S. H. M., JANSE E. M., KOCH G., DE BOER G. F.: The monoclonal antibody CVI-ChNL-68.1 recognises cells of the monocyte-macrophage lineage in chickens. *Dev. Comp. Immunol.*, 1988, **12** : 855-864
26. JEURISSEN S. H. M., JANSE E. M., LEHRBACH P. R., HADDAD E. E., AVAKIAN A., WHITHFILL C. E. : The working mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infectious bursal disease. *Immunology*, 1998, **95** : 494-500
27. KLAUS G. G. B. : Generation of memory cells II. Generation of B-memory cells with preformed antigen-antibody complexes. *Immunology*, 1978, **12** :855-864

28. KREIDER D. L., SKEELES J. K., PARSLEY M., NEWBERRY L. A., STORY J. D. : Variability in a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay system. I. Assay variability. *Avian diseases*, 1991, **35** : 276-278
29. LASHER H. N., SHANE S. M. : Infectious bursal disease. *World's Poultry Science Journal*, 1994, **50** : 133-166
30. LASHER H. N., VERGIL S. DAVIS : History of IBD in the USA the first two decades. *Avian Disease*, 1997, **41** : 11-19
31. LEY D. H., YAMAMOTO R., BICKFORD A. A. : The pathogenesis of infectious bursal disease : serologic, histopathologic, and clinical chemical observations. *Avian Diseases*, 1983, **27** : 1060 –1085
32. LUCKERT P. D. : A history of an IBD vaccine. *Interlink. Select Laboratories, Inc*, 1991, **1(1)** : 2,7
33. MAZARIEGOS L. A., LUKERT P. D., BROWN J. : Pathogenicity and immunosuppressive properties of infectious bursal disease « intermediate » strains. *Avian diseases*, 1990, **34** : 203-208
34. McFERRAN J. B., McNULTY M. S., McKILLOP E., CONNER J., McCracken R. M., COLLINS D. S., ALLAN G. M. : Isolation and serological studies with infectious bursal disease viruses from fowl, turkeys, and ducks. Demonstration of a second serotype. *Avian Pathology*, 1980, **9** : 395-404
35. McILROY S. G., GOODALL E. A., BRUCE D. W., McCracken R. M., McNULTY M. S. : The cost benefit of vaccinating broiler flocks against subclinical infectious bursal disease. *Avian Pathology*, 1992, **21** : 65-76
36. McILROY S. G., GOODALL E. A., McCracken R. M. : Economic effects of subclinical infectious bursal disease on broiler production. *Avian Pathology*, 1989, **18** : 465-480

37. MEULEMANS G., DECAESSTECKER M., HALEN P., FROYMAN R. : Comparaison des tests ELISA et de la séroneutralisation pour la recherche d'anticorps contre le virus de la maladie de Gumboro. *Rec. Méd. Vét.* , 1987, **163** : (5) 561-565
38. MUSKETT J. C., HPKINS I. G., EDWARDS K. R., THORNTON D. H. : Comparison of two bursal disease vaccine strains : Efficacy and potential hazards in susceptible and maternally immune birds. *Veterinary Records* , 1979, **104** : 332-334
39. MUSKETT J. C., REED N. E., THORNTON D. H. : Increased virulence of an IBD live virus vaccine after passage in chicks. *Vaccine* , 1985, **3** : 309-312
40. NAKAMURA K., YUASA N., ABE H., NARITA M. : Effect of IBDV on infections produced by *Escherichia coli* of high and low virulence in chickens. *Avian Pathology*, 1990, **19** : 713-721
41. NICK H., CURSIEFEN D., BECHT H. : Structural and growth characteristics of IBDV. *J. Virol.*, 1976, **18** : 227-234
42. PITCOVSKI J., GOLDBERG D., LEVI B. Z., DI-CASTRO D., AZRIEL A., KRISPEL S., MARAY T., SHAALTIEL Y. : Coding region of segment A sequence of a very virulent isolate of IBDV- Comparison with isolates from different countries and virulence. *Avian Disease*, 1998, **42** : 497-506
43. RICKS C. A., AVAKIAN A., BRYAN T., GILDERSLEEVE R., HADDAD E., ILICH R., KING S., MURRAY L., PHELPS P., POSTON R., WHITFILL C., WILLIAMS C. : In ovo vaccination technology. *Advances in veterinary medicine*, 1998, **41** : 495-515
44. ROSENBERGER J. K., GELB J. : Immunosuppressive effects of the infectious bursal agent and relationships to other poultry diseases. In : Proceedings of the 80th Meeting of the United States Animal Health Association, Miami Beach, Florida, 1976, 283-289
45. ROSENBERGER J. K., GELB J. : Response to several avian respiratory viruses as affected by infectious bursal disease virus. *Avian Disease*, 1978, **22** : 95-105

46. ROSSIGNEUX R. : Plan Sanitaire Permanent appliqué à la maladie de Gumboro. *Bull. Acad. Vét. De France.*, 1991 : 10 -13
47. SHARMA J. M. : Embryo Vaccination with Infectious bursal disease virus alone or in combination with Marek's disease vaccine. *Avian Disease*, 1985, **29** :1155-1169
48. SHAW I., VERVELDE L., WIJNHOFEN L., DAVISON T. F. : Efficacy of a recombinant fowlpox virus vaccine expressing VP2 protein of IBDV in different lines of chickens. In : 11th International congress of the WVPA, 1997, 14
49. SNEDEKER C., WILLS F. K., MOULTHROP I. M. : Some studies on the infectious bursal agent. *Avian Disease*, 1967, **11** : 519-528
50. SNYDER D. B. : Changes in the field status of IBDV. *Avian Pathology*, 1990, **19** : 419-423
51. SNYDER D. B., LANA D. P., SAVAGE P. K., YANCEY F. S., MENGEL S. A., MARQUARD W. W. : Differentiation of bursal disease viruses directly from infected tissues with neutralizing monoclonal antibodies. Evidence of a major antigenic shift in recent field isolates. *Avian Disease*, 1988, **32** : 535-539
52. VAN LOON A. A. W. M., DERKS M., CLAESSENS J.A.J., SANDERS E.H.M., LÜTTICKEN D. : Comparative protection studies with bursal disease variant-E antigens expressed in different systems. In : 11th International congress of the WVPA, 1997, 8
53. VINDEVOGEL H. : La maladie de Gumboro. In BRUGERE-PICOUX J., SILIM A. : *Manuel de pathologie aviaire*, 1992, Imprimerie du Cercle des Elèves, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort., 155-163
54. WEISMAN J., HITCHNER S. B. : Virus-neutralisation versus agar-gel precipitin tests for detecting serological response to infectious bursal disease virus. *Avian Disease*, 1978, **22** : 598-603

55. WHITFILL C. E., HADDAD E. E., RICKS C. A., SKEELES J. K., NEWBERRY L. A., BEASLEY J. N., ANDREWS P. D., THOMA J. A., WAKENELL P. S. : Determination of optimum formulation of a novel infectious bursal disease virus vaccine constructed by mixing bursal disease antibody with IBDV. *Avian Disease*, 1995, **39** : 687-699
56. WINTERFIELD R. W., THACKER H. L. : Immune response and pathogenicity of different strains of infectious bursal disease virus applied as vaccines. *Avian Disease*, 1978, **22** : 721-731
57. WINTERFIELD R. W., HOERR F. J., FADLY A. M. : Vaccination against Infectious Bronchitis and the Immunosuppressive effects of IBD. *Poultry Science*, 1978, **57** : **386-391**
58. WYETH P. J. : Effect of IBD on the response of chickens to *S. typhimurium* and *E. coli* infections. *Vet. Rec.*, 1975, **96** : 238-243
59. WYETH P. J., CULLEN G. A. : Transmission of immunity from inactivated infectious bursal disease oil-emulsion vaccinated parent chickens to their chicks. *Vet. Rec.*, 1978, **102** : 362-363
60. WYETH P. J., CULLEN G. A. : The use of an inactivated infectious bursal disease oil-emulsion vaccine in commercial broiler parent chickens. *Vet. Rec.*, 1979, **104** : 188-193
61. WYETH P. J., O'BRIEN J. D., CULLEN G. A. : Improved performance of progeny of broiler parent chicks vaccinated with infectious bursal disease oil-emulsion vaccine. *Avian Disease*, 1981, **25** : 228-241

Annexe A :**PROGRAMME DE VACCINATION DES
REPRODUCTEURS**

Age de vaccination	Maladie
1 jours	Bronchite Infectieuse
18 ou 21 jours	Maladie de Gumboro, vaccin vivant
4 semaines	Bronchite Infectieuse Maladie de Newcastle
8 semaines	Bronchite Infectieuse variant vivant Maladie de Newcastle
12 semaines	GTI vaccin vivant
14 semaines	Encephalomyélite
16 semaines	Laryngotrachéite
18 semaines	<i>vaccins inactivés :</i> EDS Maladie de Newcastle Maladie de Gumboro Réovirose Bronchite infectieuse GTI

Annexe B :

**FICHES TECHNIQUES DES VACCINS DU GROUPE
TEMOIN**

POULVAC® BURSA de FORT DODGE SANTE ANIMALE

POULVAC® BURSINE 2 de FORT DODGE SANTE ANIMALE

BUR-706® de Merial SAS

D'après le Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires, édition Le point vétérinaire

POULVAC® BURSINE 2

Vaccin aviaire lyophilisé à virus vivant de la maladie de Gumboro
FORT DODGE SANTÉ ANIMALE

Composition:

Lyophilisat pour suspension orale, oculaire et nébulisation.

Chaque dose de vaccin contient :

Virus vivant de la maladie de Gumboro : au minimum $10^{3.1}$ DICT₅₀

Excipient q.s.p. : 1 dose

Propriétés :

POULVAC® BURSINE 2 est un vaccin vivant, atténué, lyophilisé, contenant la souche Lukert du virus de la maladie de Gumboro, destiné aux volailles.

Indications :

Chez l'espèce poule : immunisation active contre la maladie de Gumboro.

Administration et posologie :

Voie orale (eau de boisson), oculaire (goutte dans l'œil) ou nébulisation.

Espèce poule : après reconstitution, 1 dose par animal.

Programme de vaccination:

Les anticorps d'origine maternelle peuvent affecter la réponse à la vaccination. Cependant, dès l'âge d'un jour, un pourcentage d'animaux peut être vacciné, pourcentage qui croît avec l'âge.

Le programme de vaccination sera adapté en fonction des circonstances épidémiologiques, des formes cliniques de maladie de Gumboro, et de l'âge d'apparition des symptômes.

Effets indésirables :

Après administration d'un vaccin, des réactions allergiques locales et/ou générales peuvent apparaître. Ces réactions sont généralement transitoires. Des techniques de vaccination incorrectes peuvent en favoriser l'apparition.

Précautions :

Utiliser des abreuvoirs nettoyés sans désinfectant disposés à l'abri du soleil.

Ouvrir le flacon sous l'eau.

Solubiliser le vaccin dans une quantité d'eau suffisamment limitée pour être consommée le matin en quelques heures.

Ne vacciner que des animaux sains.

Temps d'attente :

Nuls

Catégorie :

A ne délivrer que sur ordonnance.

Accessible aux groupements agréés pour la production avicole.

Conservation :

Tenir au froid (+ 2° C à + 8° C) et à l'abri de la lumière.

POULVAC® BURSA

Vaccin vivant lyophilisé de la maladie de Gumboro

FORT DODGE SANTÉ ANIMALEComposition:

Lyophilisat pour suspension orale.

Chaque dose de vaccin contient :

Virus VIVANT de la maladie de Gumboro

(souche V 877) : sup. à 10^3 DIO₅₀

Excipient q.s.p. : 1 dose

Propriétés :

L'âge optimun de la vaccination, dépendant du taux d'anticorps maternels résiduels, pourra être déterminé par analyse statistique des titres ELISA Gumboro avant vaccination, sur un échantillon d'au moins vingt poussins.

Indications :

Chez l'espèce poule : immunisation active contre la maladie de Gumboro

Administration et posologie :

Voie orale (eau de boisson).

Espèces poules à partir de l'âge de 10 jours : administrer une dose par animal.**• Programme de vaccination :***Poulets de chair* : vacciner 1 fois à partir de l'âge de 10 jours.*Futures pondeuses* : vacciner deux fois, la première vaccination à partir de 10 jours, la seconde 10 jours plus tard.**• Reconstitution du vaccin :**

— Reconstituer le vaccin juste avant l'emploi.

— Utiliser de l'eau froide, propre, contenant peu d'ions chlorures et d'ions métal par exemple de l'eau déminéralisée.

Avant de reconstituer le vaccin, il est conseillé d'ajouter des protéines protectrices à l'eau sous forme de poudre de lait écrémé (2 g par litre d'eau) ou une quantité correspondante de lait écrémé (1 litre par 50 litres d'eau).

— Ouvrir le flacon sous l'eau, remplir la moitié du flacon, dissoudre le vaccin en agitant le flacon, verser le contenu du flacon dans l'eau de boisson et rincer le flacon.

— Mélanger l'eau correctement pour assurer une dispersion complète du vaccin.

— Une pré-solution concentrée peut être préparée puis diluée à la concentration voulue dans le réservoir d'alimentation à eau ou au moyen d'une pompe doseuse.

— La quantité d'eau à utiliser dépend de la méthode d'administration, du nombre de doses, du bâtiment, etc... Par exemple : pour la vaccination de 1 000 oiseaux, utiliser autant de litres d'eau que l'âge des animaux en jours jusqu'au maximum de 40 litres. Un volume double d'eau est conseillé pour les poulets de chair âgés de plus de 2,5 semaines. Le vaccin doit être consommé dans les deux heures.

Effets indésirables :

Après administration d'un vaccin des réactions allergiques locales et/ou générales peuvent apparaître.

Ces réactions sont généralement transitoires. Des techniques de vaccination incorrectes peuvent en favoriser l'apparition

Précautions :

- Eviter tous stress des animaux avant, pendant et après la vaccination.
- Eviter d'exposer le vaccin à la chaleur et/ou à la lumière directe du soleil.
- Les désinfectants rendent le vaccin inefficace.
- Utiliser du matériel de vaccination propre.
- Détruire tout résidu de vaccin par désinfection.
- Le matériel utilisé doit être désinfecté avant d'être réemployé ou éliminé.
- Après toute manipulation, se laver et se désinfecter les mains.
- Maintenir le vaccin et le matériel utilisé pour la remise en suspension et pour l'administration hors de portée des enfants.

• Précautions particulières d'administration :

- Ne pas ajouter dans le système d'abreuvement de médicaments, d'agents nettoyant ou désinfectant le jour qui précède la vaccination et le jour de vaccination.
- S'assurer que toutes les conduites, canalisations, abreuvoirs, récipients, etc... sont parfaitement propres et ne contiennent aucun résidu de médicaments, d'agents nettoyant ou désinfectant, etc...
- La qualité du vaccin est moins compromise quand le vaccin dilué est versé directement dans les abreuvoirs.
- Assoiffer les poulets de chair pendant environ deux heures avant la vaccination et quatre heures pour les poulettes (à adapter en fonction des conditions climatiques, par exemple, une période plus courte si la température ambiante est élevée).
- S'assurer que la quantité d'eau est suffisante pour abreuver tous les animaux.
- Couper l'arrivée d'eau jusqu'à ce que tout le vaccin dilué ait été complètement consommé ou presque (ceci n'est pas valable évidemment si la méthode par pompe doseuse est employée).

Temps d'attente :

Nuls

Catégorie :

A ne délivrer que sur ordonnance.

Vaccin de la maladie de Gumboro pour lequel l'autorisation de commercialisation selon l'article L617-4 du code de la santé publique définit les conditions épidémiologiques de l'emploi.

Conservation :

Conserver au réfrigérateur (+ 2° C à + 8° C) et à l'abri de la lumière.

FORT DODGE SANTÉ ANIMALE

Quartier des Deux Lions

24, av. Marcel Dassault - B.P. 440

37204 TOURS Cedex 3

Tél. : 02.47.74.89.89

Fax : 02.47.74.89.99

BUC

346

nidazole par kg de poids vil et par jour, soit un comprimé pour 5 kg de poids vil et par jour en une prise unique pendant 7 à 10 jours.

Contre-indications

Néant.

Catégorie

Liste I.

A ne délivrer que sur ordonnance.

Présentations

Boîte de 20 comprimés appétents

A.M.M. 670 705.4 du 14/06/91

Procédé double noyau (brevet 871 706.8)

Laboratoire SEPVAL-SOGEVAL

200, route de Mayenne - B.P. 2227

53022 LAVAL Cedex 9

Tél. : 02.43.49.51.51

Télécopie : 02.43.53.97.00

BUR-706®**Vaccin vivant modifié lyophilisé de la maladie de Gumboro Souche S708****Composition**

Chaque dose de vaccin contient :

Virus ATTÉNUÉ de la maladie de Gumboro,

souche S 706, au minimum 10^{4,0} DICC₅₀

Excipient q.s.p. 1 dose

Indications

Chez l'espèce poule, vaccination contre la maladie de Gumboro.

Administration et posologie

Reprendre le vaccin lyophilisé avec de l'eau potable dépourvue de toute trace d'antiseptique ou de désinfectant (1 ml par flacon de 1 000 doses). Utiliser immédiatement après reconstitution.

Espèce poule :

• **Vaccination individuelle** (à partir de 1 jour d'âge) :

- Voie oculaire (exemple pour 1 000 doses) : diluer la solution vaccinale reconstituée (1 ml) dans 40 à 60 ml d'eau potable dépourvue de toute trace d'antiseptique ou de désinfectant, suivant le compte-gouttes utilisé. Déposer une goutte de la solution vaccinale sur l'œil de chaque oiseau, attendre l'étalement de la goutte, puis relâcher l'oiseau.

- Trempage du bec (exemple pour 1 000 doses) : diluer la solution vaccinale reconstituée (1 ml) dans 250 ml d'eau potable dépourvue de toute trace d'antiseptique ou de désinfectant. Tremper le bec jusqu'aux narines de façon à faire pénétrer la solution vaccinale dans les conduits nasaux.

• **Vaccination collective :**

- **Nébulisation** (à partir de 1 jour d'âge) (exemple pour 1 000 doses) : diluer la solution vaccinale reconstituée (1 ml) dans 300 ml d'eau potable dépourvue de toute trace d'antiseptique ou de désinfectant (1 à 15 jours d'âge) ou 500 ml (21 jours d'âge) par exemple. Ce volume est à adapter en fonction du matériel utilisé. Pulvériser la solution vaccinale au-dessus des oiseaux à l'aide d'un pulvérisateur à pression, capable de produire des microgouttelettes. Veiller à ce que les animaux soient suffisamment tassés lors de la nébulisation et dans le quart d'heure suivant pour une bonne répartition du vaccin.

- Eau de boisson (à partir de 5 jours d'âge) (exemple pour 1 000 doses) : diluer dans la solution vaccinale reconstituée (1 ml) dans 5 à 10 litres d'eau potable dépourvue de toute trace d'antiseptique ou de désinfectant. Ce volume est à adapter en fonction de l'âge des animaux, et doit être

suffisant pour que le vaccin soit absorbé dans l'heure qui suit la distribution. Distribuer la solution vaccinale préparée au moment de l'embarquement à des oiseaux préalablement privés d'eau pendant deux heures au plus.

• **Modalités de vaccination** : le programme de vaccination doit être adapté aux conditions épidémiologiques locales (pouvoir pathogène des souches virales locales, conditions sanitaires, hétérogénéité des anticorps parentaux) et au type de production (poulet de chair ou poulette future pondeuse).

La souche S 706 pouvant être administrée dès l'âge de un jour, le choix pourra se faire entre les programmes suivants :

- **Poulets de chair** :

- En régions d'endémie subclinique : BUR-706 à 1 jour d'âge et rappel à 14 jours d'âge.

- En régions d'épidémie aiguë : BUR-706 à 1 jour d'âge et rappels vers 11 et 21 jours d'âge.

- **Poulettes futures pondeuses** :

- En régions d'endémie subclinique : BUR-706 à 28 jours d'âge.

- En régions d'épidémie aiguë : BUR-706 à 1 jour d'âge, rappels vers 14 et 28 jours d'âge.

Dans certaines conditions, une meilleure protection des poulettes peut nécessiter l'emploi d'un programme vaccinal associant le vaccin BUR-706 à partir de l'âge de 1 jour et le vaccin inactivé de la maladie de Gumboro.

Précautions

Ne vacciner que les animaux en bonne santé.

Respecter les conditions habituelles d'asepsie.

Utiliser pour la préparation de la solution vaccinale du matériel stérile et dépourvu de toute trace d'antiseptique ou de désinfectant.

Détruire le reliquat vaccinal inutilisé et désinfecter les flacons vides avant leur élimination.

Délais d'attente

Nuls.

Catégorie

A ne délivrer que sur ordonnance.

Accessible aux groupements agréés pour la production avicole.

Conservation

Conservé entre + 2° C et + 8° C et à l'obscurité

Présentations

Coffret de 10 flacons de 1 000 doses

A.M.M. 671 351.1 du 01/04/92

Coffret de 10 flacons de 5 000 doses

A.M.M. 671 352.8 du 01/04/92

Coffret de 10 flacons de 15 000 doses

A.M.M. 671 354.0 du 01/04/92

RHÔNE MÉRIEUX

Siège social :

17, rue Bourgelat - 69002 Lyon

Direction Europe :

29, avenue Tony Garnier - 69007 LYON

Tél. : 04.72.72.30.00

Télécopie : 04.72.72.30.69

Télex : RM 375 887 F

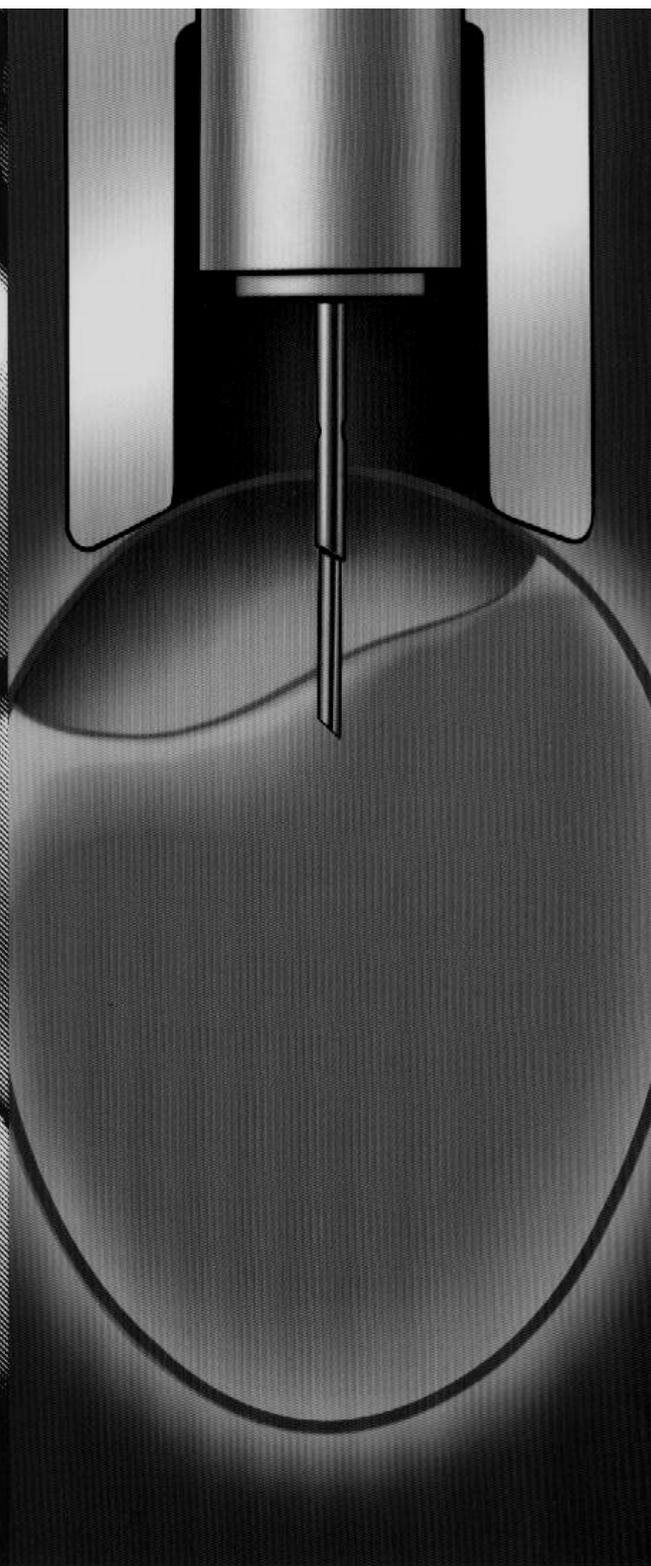
Le DMV est également disponible sur CD-Rom (à partir de fin 97)

Annexe C :

FICHE TECHNIQUE DE L'INOVOJECT®

**LE SYSTEME DE
VACCINATION
INOVOJECT®:
LE NOUVEAU
STANDARD
MONDIAL
EN MATIERE
D'INJECTION
IN-OVO!**

emborex inc.

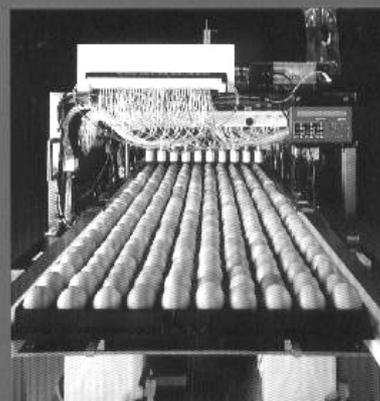


LE SYSTEME
D'INJECTION
D'OEUF
INOJECT®
EST LA
PROTECTION
LA PLUS
RAPIDE
ET LA PLUS
EFFICACE
QUI EXISTE
CONTRE LES
MALADIES.

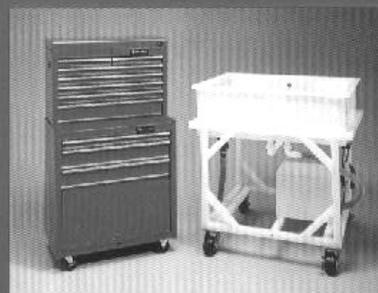
emborex inc.



L'écran de contrôle digital a été conçu pour commander toutes les fonctions du système Inoject.®

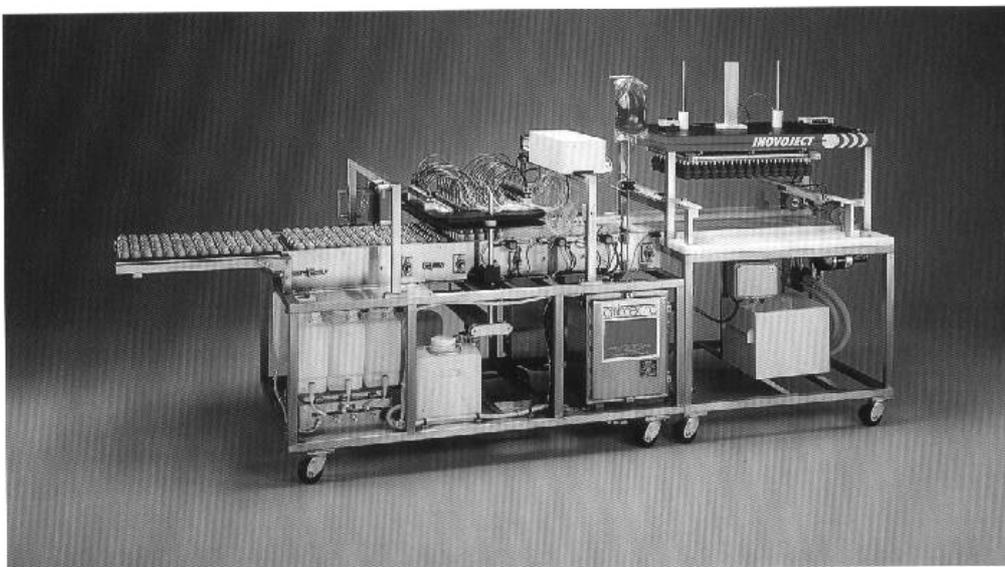


Le système Inoject® injecte d'une manière précise, douce et régulière 20.000 à 50.000 oeufs par heure, selon le type de configuration.



Une servante contient les pièces détachées nécessaires aux réparations et à la maintenance de routine. Un bain à bulles mobile est fourni pour le nettoyage journalier de la tête de transfert.

LE SYSTEME D'INJECTION D'OEUFS INOJECT®: LE NOUVEAU STANDARD MONDIAL EN MATIERE D'INJECTION IN-OVO!



Le système Inoject® occupe une place de leader grâce à son succès mondial. Avec plus de 30 modèles disponibles, le système Inoject® peut s'adapter à la plupart des types de plateaux d'incubation et de paniers d'éclosion.

SUCCES COMMERCIAL:

Plus de 80% des oeufs à couver de poulets produits aux USA et au Canada sont déjà traités avec le système Inoject®! Plus de 18 milliards d'oeufs ont déjà été injectés depuis que le système Inoject® a été introduit en 1992.

AVANTAGES OBSERVES:

- *Animaux plus sains*
Le système Inoject® est le seul système qui permet une protection anticipée et efficace contre les maladies. Les statistiques démontrent clairement des poussins plus sains et aux performances nettement meilleures.
- *Des poussins moins stressés*
L'injection in-ovo diminue considérablement le stress lié à la manipulation des poussins, provoqué lors de la vaccination manuelle.
- *Injection précise et uniforme*
Garantie de l'injection d'une quantité précise dans 100% des oeufs.
- *Réduction des frais d'utilisation*
Le système Inoject® injecte et transfère les oeufs du plateau d'incubation au panier d'éclosion avec 2 opérateurs seulement.
- *Construit pour s'adapter à la configuration de chaque couvoir*
Le système Inoject® peut s'adapter à la plupart des types de couvoirs et est conçu pour une manipulation facile et une utilisation simple.
- *Risque de contamination minimal*
Les aiguilles sont désinfectées individuellement après chaque injection. Ceci réduit considérablement le risque de contamination, en comparaison avec le système d'injection manuel traditionnel.
- *Facile à entretenir et à réparer*
La conception de la machine facilite le nettoyage et le remplacement des pièces. Tous les composants remplaçables sont fournis.

UN SOLIDE AVENIR

Embrex Inc. est le leader du développement et du marketing dans la technique de l'injection *in-ovo*. Le système Inoject® peut inoculer et transférer jusqu'à 50.000 oeufs par heure, ce qui rend la technique de vaccination manuelle dépassée. Embrex a pour but d'augmenter la productivité et les profits de ses clients dans le monde entier.

Annexe D :

<p>Tableaux 1 à 10, TITRES SEROLOGIQUES A 1 JOUR, 3, 4, 5 SEMAINES ET ABATTAGE PAR SITE</p>
--

Tableau 1 :	site C
Tableau 2 :	site F
Tableau 3 :	site D
Tableau 4 :	site B
Tableau 5 :	site H
Tableau 6 :	site I
Tableau 7 :	site E
Tableau 8 :	site Q
Tableau 9 :	site F bis
Tableau 10 :	site D bis

	1 Jour		3 semaines		4 semaines		5 semaines	
	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin
	4,919	3,993	0	0	0	0	1,750	2,129
	7,336	10,824	0	0	0	0	2,704	2,655
	10,224	6,463	0	0	0	0	2,302	0
	7,347	10,495	0	0	0	0	2,113	0
	3,700	6,148	0	0	0	561	1,501	1,493
	5,960	6,972	0	0	0	0	2,105	2,438
	8,873	6,749	0	0	0	0	2,769	848
	7,336	7,833	0	0	0	0	2,215	2,842
	4,841	4,489	0	0	0	1,251	2,011	3,542
	4,589	4,993	0	0	0	0	1,742	1,811
	3,077	3,565	0	0	0	882	0	2,263
	7,605	7,015	0	0	814	0	1,280	2,639
	2,600	8,983	0	0	0	0	1,973	2,631
	5,514	4,529	0	0	0	0	4,149	1,280
	9,976	6,717	0	0	0	0	2,176	1,367
	7,357	7,025	0	0	0	0	3,390	0
	6,148	4,200	0	0	0	0	0	0
	3,487	6,326	0	0	0	0	1,681	2,082
	5,949	5,991	0	0	0	0	1,546	3,223
	5,288	6,611	0	0	0	0	0	3,040
M. A.	6,091.3	6,496.1	0.0	0.0	40.7	134.7	1,870.4	1,814.2
M. G.	5,708.0	6,220.4	0.0	0.0	0.4	1.8	667.4	459.0
Nbr séro+	20/20	20/20	0/20	0/20	0.05	0.15	17 / 20	16 / 20

M. A. : moyenne arithmétique

M. G. : moyenne géométrique

Nbr séro+ : nombre de séropositifs

Tableau 1 : site C
Titres en anticorps IBD à 1 jour, 3, 4 et 5 semaines d'âge

	1 Jour		3 semaines		4 semaines		5 semaines		abattage	
	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot témoin	lot témoin	lot in ovo (37 j)	lot témoin (40 j)
	4,533	5,057	0	0	0	0	2,649	0	2,582	0
	3,664	5,802	0	0	0	0	2,210	0	2,480	0
	5,274	7,964	0	0	833	0	1,201	0	2,237	0
	5,223	5,260	0	0	0	0	1,897	629	2,250	2,928
	1,782	7,204	662	0	0	0	1,295	0	1,710	0
	3,478	6,599	0	0	1,992	0	2,670	0	1,424	0
	5,384	4,356	0	0	0	0	3,012	0	1,481	2,534
	5,662	6,833	0	0	0	0	2,691	3,142	1,899	0
	3,513	5,267	0	0	0	0	1,671	0	3,810	0
	3,969	6,584	0	0	0	0	3,323	0	2,956	2,886
	4,797	6,976	0	0	623	0	2,691	0	2,569	0
	4,391	7,733	0	0	2,536	0	2,417	721	1,846	1,627
	3,213	5,260	0	0	0	0	1,213	1,138	1,801	0
	4,011	6,009	0	0	0	0	2,348	0	566	0
	3,823	3,478	0	0	0	0	1,711	0	1,393	0
	5,861	4,186	898	0	0	0	2,494	0	2,956	0
	3,636	8,515	0	0	0	0	1,475	0	2,500	604
	5,187	2,666	0	0	0	0	1,302	0	3,005	0
	2,282	6,787	0	630	863	0	2,529	0	2,487	0
	6,210	4,448	577	0	0	0	2,847	0	1,807	0
M. A.	4,294.7	5,849.2	106.9	31.5	342.4	0.0	2,182.3	281.5	2,188.0	529.0
M. G.	4,117.3	5,630.7	1.7	0.4	4.9	0.0	2,078.7	3.1	2,047.2	5.5
Nbr séro+	20/20	20/20	3/20	1/20	5/20	0/20	20/20	4/20	20/20	5/20

M. A. : moyenne arithmétique

M. G. : moyenne géométrique

Nbr séro+ : nombre de séropositifs

Tableau 2 : site F
Titres en anticorps IBD à 1 j, 3, 4 et 5 semaines d'âge

1 Jour		3 semaines		4 semaines		5 semaines		abattage		
lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo (40 j)	lot témoin (39 j)	
7,230	4,775	0	0	0	0	2,223	0	1,813	2,806	
5,142	4,668	0	0	0	1,084	1,991	0	3,720	2,191	
6,617	5,405	0	0	0	0	907	0	2,328	2,678	
5,915	4,262	0	0	0	0	1,931	1,146	2,860	4,095	
4,293	7,062	0	0	0	0	0	0	4,381	2,766	
6,736	7,042	0	0	0	0	0	0	2,672	2,380	
6,630	7,458	0	0	0	0	2,059	2,032	2,120	2,361	
5,034	8,973	0	0	0	0	1,284	2,409	4,223	2,374	
4,611	7,741	0	0	0	0	1,328	0	2,289	2,759	
4,200	3,378	0	0	0	0	0	0	2,133	2,975	
5,941	2,874	0	0	0	0	2,209	2,931	2,107	1,985	
5,142	4,806	0	0	0	0	0	1,016	3,104	2,165	
5,993	4,636	0	0	0	0	0	2,175	2,152	2,100	
7,283	5,611	0	0	0	0	0	2,395	2,900	1,241	
4,524	6,756	0	0	0	0	1,684	558	3,490	707	
6,452	3,625	1,369	0	0	0	0	2,134	2,975	1,052	
8,443	6,571	0	0	0	0	2,493	2,285	3,896	2,420	
7,424	5,110	0	0	0	0	2,257	1,071	2,705	2,975	
2,429	6,929	0	0	0	0	0	0	2,165	2,894	
6,743	3,619	0	0	0	747			3,476	609	
M. A.	5,839.1	5,565.1	68.5	0.0	0.0	91.6	1,071.9	1,060.6	2,875.5	2,276.7
M. G.	5,646.9	5,321.1	0.4	0.0	0.0	1.0	75.2	72.0	2,782.2	2,073.7
Nbr séro+	20/20	20/20	1/20	0/20	0/20	2/20	11/19	11/19	20/20	20/20

M. A. : moyenne arithmétique

M. G. : moyenne géométrique

Nbr séro+ : nombre de séropositifs

Tableau 3 : site D
Titres en anticorps IBD à 1 j, 3, 4 et 5 semaines d'âge

1 Jour		3 semaines		4 semaines		5 semaines		abattage		
lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo (36 j)	lot témoin (37 j)	
5,203	4,510	579	0	0	0	0	0	3,243	0	
6,008	6,211	686	0	0	0	0	0	3,651	0	
5,797	4,815	0	0	0	0	0	0	2,666	0	
4,381	7,213	0	0	0	0	0	0	2,387	0	
6,966	3,372	0	0	0	0	1,677	0	3,809	0	
4,547	4,116	0	0	0	0	0	0	1,763	0	
3,946	5,529	0	0	0	0	2,252	0	2,043	0	
4,771	7,136	0	0	0	0	0	0	0	0	
5,730	4,496	0	0	0	0	0	0	641	0	
5,835	4,626	0	0	0	0	3,658	0	3,331	754	
3,407	8,473	0	0	0	0	1,264	0	2,522	0	
4,626	7,820	0	0	0	0	1,856	0	3,196	0	
3,476	5,499	0	0	0	0	2,903	0	942	0	
4,066	4,003	0	0	0	0	0	0	5,591	0	
6,568	3,511	0	0	675	0	2,989	0	1,188	0	
6,257	4,713	807	0	0	0	0	0	3,156	0	
6,355	6,667	0	0	0	0	1,388	0	4,191	0	
8,189	5,559	0	0	0	0	1,507	0	3,365	0	
7,074	4,223	0	0	0	0	0	0	3,069	0	
		0	0	0	0	0	0		0	
M. A.	5,431.7	5,394.3	103.6	0.0	35.5	0.0	974.7	0.0	2,671.3	39.7
M. G.	5,278.1	5,211.2	1.7	0.0	0.4	0.0	29.8	0.0	1,659.7	0.4
Nbr séro+	19/19	19/19	3/20	0/20	1/19	0/19	9/20	0/20	18/19	1/19

M. A. : moyenne arithmétique

M. G. : moyenne géométrique

Nbr séro+ : nombre de séropositifs

Tableau 4 : site B
Titres en anticorps IBD à 1 j, 3, 4 et 5 semaines d'âge

1 Jour		3 semaines		4 semaines		5 semaines		abattage*	
lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo (39 j)	lot in ovo (39 j)
6,638	3,489	0	0	0	0	0	0	2,193	2,984
5,215	5,237	0	0	0	0	0	0	2,062	2,971
3,048	3,869	0	0	0	0	0	0	2,692	824
7,161	5,434	0	0	0	0	0	0	2,526	3,059
5,647	4,991	0	0	0	0	0	0	1,460	2,235
6,166	4,389	0	0	0	0	0	0	2,349	2,556
5,610	3,366	0	0	0	0	1,289	0	1,838	3,091
7,375	5,201	0	556	0	0	0	0	1,920	3,671
5,354	5,817	0	0	0	0	0	0	2,834	1,944
4,991	6,300	0	0	0	2,907	0	0	2,410	3,204
5,935	3,027	0	0	0	4,109	0	0	2,915	1,944
7,115	6,842	0	0	0	0	0	0	656	2,965
2,934	7,100	0	0	0	0	0	0	1,613	2,289
3,421	3,974	0	0	0	0	0	0	2,815	3,710
1,519	1,977	0	0	0	0	0	0	2,032	2,416
7,890	3,682	0	0	0	0	0	0	2,710	3,280
7,069	4,588	0	0	0	0	2,806	0	1,596	3,350
5,412	5,244	0	0	0	0	1,775	0	2,283	2,593
4,191	2,161	0	0	0	0	0	0	2,477	3,516
4,574			0	0	0	0	0		2,859
M. A.	5,363.3	4,562.5	0.0	27.8	0.0	369.3	293.5	0.0	2,177.9
M. G.	5,032.1	4,321.5	0.0	0.4	0.0	1.4	2.1	0.0	2,357.5
Nbr séro+	20/20	19/19	0/19	1/20	0/19	2/19	3/20	0/20	39/39

M. A. : moyenne arithmétique

M. G. : moyenne géométrique

Nbr séro+ : nombre de séropositifs

* : seul le lot in ovo a été prélevé, pas de donnée pour le lot témoin

Tableau 5 : site H
Titres en anticorps IBD à 1 j, 3, 4 et 5 semaines d'âge

1 Jour		3 semaines		4 semaines		5 semaines		
lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	
7,346	7,175	566	0	914	0	0	3,932	
6,489	4,858	0	0	0	0	0	590	
3,440	5,285	0	766	0	0	0	600	
5,326	8,583	0	0	0	0	0	792	
7,439	9,023	0	0	0	0	0	0	
5,751	7,539	0	0	0	0	0	0	
5,827	3,826	0	0	0	0	4,453	0	
5,271	6,890	0	673	0	0	0	0	
8,196	5,258	0	0	0	0	0	0	
6,524	7,539	808	0	0	2,907	0	0	
7,676	6,848	0	0	0	4,109	620	1,401	
8,385	5,503	0	0	0	0	5,661	936	
5,442	6,035	0	688	1,000	0	595	3,311	
4,731	7,777	0	0	973	0	2,820	0	
4,691	6,777	0	0	0	0	595	0	
6,146	4,664	0	0	898	0	0	635	
6,622	8,458	0	802	1,038	0	872	0	
5,785	5,993	0	0	0	0	2,096	620	
6,237	5,142	0	0	0	0	0	0	
			0	0	0	0	0	
M. A.	6,174.9	6,482.8	68.7	146.5	253.8	369.3	885.6	640.9
M. G.	6,044.2	6,320.5	0.9	2.7	5.1	1.4	17.7	22.1
Nbr séro+	19/19	19/19	2/20	4/20	5/19	2/19	8/20	9/20

M. A. : moyenne arithmétique

M. G. : moyenne géométrique

Nbr séro+ : nombre de séropositifs

Tableau 6 : site I
Titres en anticorps IBD à 1 j, 3, 4 et 5 semaines d'âge

	1 Jour		3 semaines		4 semaines		5 semaines	
	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin
	3,113	4,683	872	0	0	0	0	0
	3,194	5,266	0	0	0	0	0	0
	6,401	5,242	0	0	2,607	0	0	0
	5,147	7,392	0	823	0	0	0	0
	4,419	5,890	576	757	0	0	0	0
	3,113	2,175	0	692	0	0	0	0
	7,209	4,350	0	0	0	0	0	0
	5,520	5,954	0	781	0	0	0	0
	7,184	6,116	0	0	2,529	0	0	0
	4,373	7,325	0	0	0	0	0	0
	4,142	7,084	0	564	0	0	0	0
	7,001	7,643	0	587	1,605	0	0	0
	3,394	4,715	733	0	0	0	0	0
	8,932	2,357	0	0	0	0	0	0
	2,887	5,665	0	0	0	0	0	0
	6,869	5,512	616	698	0	0	0	0
	8,258	3,762	622	0	0	0	0	0
	4,863	7,668	0	0	0	0	0	0
		7,417	0	909	0	0	0	0
				781				
M. A.	5,334.4	5,590.3	179.9	329.6	354.8	0.0	0.0	0.0
M. G.	5,009.3	5,297.1	4.6	18.4	2.4	0.0	0.0	0.0
Nbr séro+	18/18	19/19	5/19	9/20	3/19	0/19	0/19	0/19

M. A. : moyenne arithmétique

M. G. : moyenne géométrique

Nbr séro+ : nombre de séropositifs

Tableau 7 : site E
Titres en anticorps IBD à 1 j, 3, 4 et 5 semaines d'âge

	1 Jour		3 semaines		4 semaines		5 semaines	
	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin
	5,919	685	0	0	0	0	1,219	0
	5,100	5,276	0	0	0	0	2,032	0
	6,812	1,518	0	0	1,816	0	0	0
	3,885	2,914	0	742	0	0	0	0
	5,469	5,315	645	0	0	0	1,889	0
	5,725	4,864	0	0	0	755	0	0
	5,016	4,107	0	0	0	0	2,038	0
	4,107	7,713	0	1,271	0	0	0	0
	5,315	6,328	0	0	0	0	0	0
	2,683	1,698	0	0	0	0	853	0
	1,666	5,146	0	1,346	0	0	777	654
	8,738	8,639	0	835	0	2,232	0	0
	5,407	7,357	0	0	0	0	0	0
	8,490	5,647	0	0	0	0	0	771
	6,605	9,545	0	0	0	0	0	0
	5,477	5,108	0	0	0	0	0	0
	6,955	3,702	0	0	0	0	0	0
	2,801	7,827	0	0	0	0	0	0
	4,502	5,446	0	0		0	0	0
			0	0		0	0	0
M. A.	5,298.5	5,196.6	32.3	209.7	100.9	165.9	463.6	75.0
M. G.	4,947.1	4,438.1	0.4	3.0	0.5	1.2	8.8	1.0
Nbr séro+	19/19	19/19	1/20	4/20	1/18	2/18	6/19	2/19

M. A. : moyenne arithmétique

M. G. : moyenne géométrique

Nbr séro+ : nombre de séropositifs

Tableau 8 : site A
Titres en anticorps IBD à 1 j, 3, 4 et 5 semaines d'âge

1 Jour		3 semaines		4 semaines		5 semaines		abattage		
lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo (40 j)	lot témoin (40 j)	
7,953	3,528	0	0	0	0	0	0	2,160	1,899	
5,653	5,976	0	0	0	0	0	0	1,301	3,824	
6,198	5,493	0	0	0	0	0	728	2,586	3,907	
4,851	5,053	0	0	0	0	2,953	0	2,804	2,895	
6,276	5,467	0	0	0	0	841	1,053	1,071	1,372	
4,782	1,680	0	0	0	0	1,803	0	0	1,968	
5,155	5,776	0	0	0	811	1,809	0	1,791	1,768	
5,705	4,657	0	0	0	0	3,473	0	1,621	1,582	
6,505	4,371	0	0	0	0	2,187	603	1,487	1,808	
2,214	6,716	0	0	0	0	747	0	930	1,204	
939	7,925	0	0	0	0	1,007	0	1,532	1,003	
6,074	5,129	0	0	0	0	0	0	2,520	2,901	
3,546	5,155	0	0	3,001	0	0	0	1,356	2,195	
3,171	7,080	0	0	0	0	636	0	3,314	2,160	
3,849	5,660	0	0	0	0	674	0	3,433	1,655	
4,814	2,965	0	0	0	0	0	1,594	2,846	1,055	
5,731	5,976	0	0	0	0	0	0	2,125	2,383	
5,782	4,457	0	0	0	0	1,115	0	2,665	2,755	
7,314	6,941	0	0	0	0	0	0	2,160	2,096	
7,642	5,692			0	0			2,218	2,084	
								838		
								2,043		
M. A.	5,207.70	5,284.90	0	0	150.1	40.6	907.6	209.4	1,945.5	2,125.7
M. G.	4,774.20	5,038.60	0	0	0.5	0.4	63.2	3.2	1,345.7	1,988.4
Nbr séro+	20/20	20/20	0/19	0/19	1/20	1/20	11/19	4/19	21/22	20/20

M. A. : moyenne arithmétique

M. G. : moyenne géométrique

Nbr séro+ : nombre de séropositifs

Tableau 9 : site F bis
Titres en anticorps IBD à 1 j, 3, 4 et 5 semaines d'âge

1 Jour		3 semaines		4 semaines		5 semaines		abattage		
lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo	lot témoin	lot in ovo (40 j)	lot témoin (40 j)	
6,317	3,964	0	0	0	0	844	0	3,393	3,710	
1,666	7,735	0	0	0	0	2,079	1,101	3,696	2,714	
3,856	5,619	0	0	0	0	671	3,210	2,964	3,106	
7,265	3,091	0	0	0	0	1,511	0	2,983	2,189	
4,409	2,713	0	0	0	0	584	2,506	3,138	2,676	
6,716	6,427	0	0	0	0	0	660	3,485	2,531	
6,861	3,467	0	0	0	1,576	0	4,254	3,373	2,619	
6,441	4,578	0	0	0	0	0	686	2,356	2,537	
6,668	3,184	0	0	0	0	0	1,179	3,676	1,969	
4,919	5,250	0	0	0	0	0	861	3,551	2,772	
1,689	4,866	0	0	0	0	0	1,807	3,281	2,791	
2,289	5,855	0	0	0	0	936	0	2,269	2,714	
2,895	4,939	0	0	0	783	1,849	0	3,009	3,478	
1,848	4,234	0	0	0	0	770	2,177	2,708	3,347	
2,312	3,165	0	0	0	0	2,657	1,605	3,353	2,664	
5,244	5,848	0	0	0	0	0	2,128	3,125	3,360	
7,377	2,201	0	0	0	0	1,448	0	2,925	2,772	
4,617	6,085	0	0	0	0	0	2,313	2,855	3,903	
6,503	3,837	0	0	0	0	0	2,765	2,887	2,855	
		0	0	0		599	3,836			
M. A.	4,731.2	4,581.8	0.0	0.0	0.0	124.2	697.4	1,554.4	3,106.7	2,879.3
M. G.	4,202.8	4,357.0	0.0	0.0	0.0	1.1	46.4	273.2	3,081.0	2,839.9
Nbr séro+	19/19	19/19	0/20	0/20	0/19	2/19	11/20	15/20	19/19	19/19

M. A. : moyenne arithmétique

M. G. : moyenne géométrique

Nbr séro+ : nombre de séropositifs

Tableau 10 : site D bis
Titres en anticorps IBD à 1 j, 3, 4 et 5 semaines d'âge

Nom : **SELLAM**Prénom : **Karine**

Titre : **Vaccination contre la maladie de Gumboro :
Essai clinique terrain du BURSAMUNE® IN OVO**

RESUME

La maladie de Gumboro est une infection virale contagieuse des volailles qui existe sous deux formes, aiguë et subclinique. La prophylaxie médicale est basée sur une immunisation des reproductrices avec un vaccin inactivé qui fournit une immunité passive pendant les premières semaines de vie des poulets de chair, relayée par une immunité active avec un vaccin vivant atténué distribué dans l'eau de boisson. Il existe un nouveau type de vaccination contre la maladie de Gumboro : un vaccin formé d'un complexe anticorps-antigène BURSAMUNE® du laboratoire Fort Dodge Santé Animale injecté *in ovo* à des embryons de 18 jours avec une machine INOVOJECT® d'Embrex Inc. La vaccination *in ovo* offre la possibilité de vacciner de façon individuelle et en grande quantité des poulets de chair (20 000 à 50 000 œufs par heure) quelque soit leur statut immunitaire. Le rapport d'un essai clinique réalisé en Bretagne en 1998 dans le cadre d'un dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché du vaccin BURSAMUNE® *in ovo* de Fort Dodge Santé Animale montre l'efficacité et l'innocuité du vaccin .

Mots-clés : GUMBORO, INFECTIOUS BURSAL DISEASE, IBD, VACCINATION IN OVO

Infectious Bursal Disease vaccination: Field trial of BURSAMUNE® IN OVO

SUMMARY

Infectious bursal disease (IBD) causes a highly acute or subclinical infection of chickens. The control of IBD is based on a breeder vaccination with inactivated vaccine which induced passive immunity of broiler. This maternal immunity is followed with a broiler vaccination in drinking water with alive vaccine. A new vaccination way exists : the vaccine is a complex of an hyper-immune serum to IBD and an infectious bursal disease virus BURSAMUNE® Fort Dodge Animal Health injected *in ovo* at 18 days-old embryos with a machine INOVOJECT® Embrex Inc. With the *in ovo* vaccination, broilers are vaccinated individually and very quickly (20 000 to 50 000 eggs per hour) whatever the maternal antibody rate. A field trial report made in Britany in 1998 for the vaccine's french registration shows the efficiency and safety of BURSAMUNE®.

Key words : GUMBORO, INFECTIOUS BURSAL DISEASE, IBD, IN OVO VACCINATION