

Evaluation de la protéine recombinante HspB pour l'immunodiagnostic de la fièvre Q chez les caprins

Evaluation of the recombinant HspB protein for Q fever immunodiagnosis in goats

FERNANDES ROUVIERE I. (1), ROUSSET E. (1), DUFOUR P. (1), SIDI-BOUMEDINE K. (1), CUPO A. (2), THIERY R. (1), DUQUESNE V. (1)

(1) Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, AFSSA - unité Pathologie des petits ruminants - 105 route des Chappes - BP111 - 06902 Sophia Antipolis cedex - France

(2) Institut de pharmacologie moléculaire et cellulaire - CNRS UPR411 - Université de Nice - Sophia Antipolis - 660 Route des Lucioles - 06500 Valbonne - France

INTRODUCTION

Coxiella burnetii est une bactérie intracellulaire responsable d'une zoonose, la fièvre Q. Différents tests sérologiques basés sur la reconnaissance de l'antigène total de *Coxiella burnetii* de phase I et II sont disponibles pour diagnostiquer la fièvre Q chez les ruminants. Ces tests peuvent donner des résultats discordants sur le terrain du fait de leur différence de sensibilité et des souches utilisées (Rousset *et al.*, 2007). Pour surmonter ce problème, des tests ELISA basés sur des antigènes recombinants sont envisagés. Dans cette étude, la protéine du choc thermique HspB a été testée pour sa capacité à signer un stade d'infection.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. SERUMS SELECTIONNES

Des sérums caprins expérimentalement infectés par la souche caprine CbC1 de *C. burnetii* ont été fournis par A. Rodolakis (Arricau-Bouvery *et al.*, 2003).

Des sérums d'animaux naturellement infectés ont été sélectionnés à partir d'un troupeau de quarante-deux caprins. Six animaux considérés en infection latente (séropositif en ELISA en 2006 et 2007 et PCR quantitative négative sur écouvillon vaginal en 2007) et cinq en réactivation de l'infection (séropositif en ELISA en 2006 et 2007 et qPCR > 10⁴) ont été sélectionnés.

1.2. ELISA rHspB

La protéine recombinante HspB (rHspB) a été produite dans *E. coli* puis purifiée en condition dénaturante. 100 ng de cette protéine ont été déposés dans chaque cupule et incubés une nuit à 4°C. Les sérums ont été dilués au 1/100^{ème} et le conjugué au 1/40 000^{ème}. La densité optique a été lue à 620 nm.

1.3. ANALYSE STATISTIQUE

Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le test non paramétrique de Wilcoxon. Les différences sont significatives quand $p < 0,05$.

2. RESULTATS

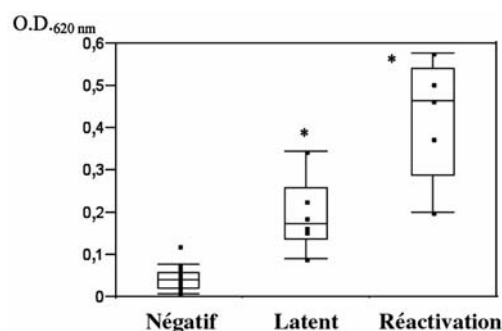
La protéine HspB a été produite sous forme recombinante. Cette protéine a été testée, par ELISA, avec des sérums de caprins expérimentalement infectés. Contrairement au test ELISA utilisant un antigène total, où aucun animal n'est séropositif à j 18 post-infection, 25 % des caprins sont séropositifs avec un ELISA utilisant la protéine rHspB comme antigène. De plus, on observe un plateau de j 39 à j 60 post-infection puis une diminution de la réactivité des sérums vis-à-vis de rHspB. Les valeurs de densité optique de j 18 à j 81 sont statistiquement plus élevées que celles du groupe latent. Ces résultats indiquent que HspB pourrait être un marqueur de début d'infection.

Par ailleurs, des sérums de caprins en réactivation de l'infection et des sérums de caprins en infection latente ont été testés avec l'ELISA rHspB (figure 1). L'analyse statistique des valeurs de densités optiques de ces sérums suggère que rHspB pourrait également être un marqueur de réactivation de l'infection.

Des polypeptides de la protéine HspB ont également été testés par ELISA avec ces différents sérums. Les résultats préliminaires indiquent que le polypeptide correspondant à l'extrémité C-terminale de la protéine rHspB peut être un marqueur de la réactivation de l'infection et non de début d'infection.

Figure 1 : Test ELISA rHspB réalisé sur des sérums de caprins négatifs, en infection latente ou en réactivation de l'infection.

Une différence significative est observée entre les groupes latent et réactivation (*).



3. DISCUSSION ET CONCLUSION

L'utilisation de tests permettant de distinguer une infection récente et latente pourrait permettre de mieux comprendre la dynamique des épisodes de fièvre Q, et par-là, de prendre des mesures afin de limiter la contamination de l'environnement et prévenir les avortements dans les troupeaux. Cette étude a mis en évidence pour la première fois le rôle possible de la protéine HspB comme marqueur d'une infection récente par *C. burnetii* et de la réactivation de l'infection chez les caprins. Nous avons également mis en évidence qu'un polypeptide de la protéine HspB permettrait d'identifier les animaux en réactivation de l'infection.

En conclusion, cette protéine peut être utilisée en ELISA afin d'identifier les caprins en infection récente ou en réactivation de l'infection. Les études en cours visent à déterminer si rHspB peut également être utilisée pour le diagnostic de la fièvre Q chez les autres espèces de ruminants domestiques.

Arricau-Bouvery N., Souriau A., Lechopier P., Rodolakis A., 2003. *Vet. Res.* 34, 423-433

Rousset E., Durand B., Berri M., Dufour P., Prigent M., Russo P., Delcroix T., Touratier A., Rodolakis A., Aubert M., 2007. *Vet. Microbiol.* 124, 286-297