

*Bull. Acad. Vét. de France*, 1986, 59, 99-103

## COMMUNICATIONS

---

### **Contrôle par test immuno-enzymatique de l'effet d'un vaccin antichlamydien chez les ovins**

par J. VITTOZ\* et E. EDLINGER\*\*

---

avec la collaboration technique de Mmes COSSON\*\* et MASSIS\*

#### **RÉSUMÉ**

Les auteurs montrent, par la technique du test immuno-enzymatique pratiqué à partir du sérum de brebis vaccinées en deux temps avec un vaccin antichlamydien (Rickovis), la montée du titre des anticorps antichlamydiens et leur persistance après la vaccination.

*Mots clés* : Vaccin antichlamydien - Ovins - Contrôle.

#### **SUMMARY**

#### **ACTIVITY OF ANTICHLAMYDIA VACCINE IN SHEEP CONTROLLED BY IMMUNO-ENZYMATIC TEST**

Using an immuno-enzymatic test, the authors showed the rise and the persistence of chlamydia antibodies in ewes vaccinated twice with the vaccin Rickovis.

*Key words* : Antichlamydia vaccine - Sheep - Control.

Les chlamydioses ovines présentent un sérieux problème pour les éleveurs. Une vaccination efficace pourrait être une mesure préventive [1]. Dans ce travail, nous avons étudié, l'apparition et la persistance des anticorps anti-*Chl. psittaci* après la vaccination.

La sérologie des ovins peut être exécutée par plusieurs techniques, notamment la réaction de fixation du complément (RFC) [2],

---

\* Institut de Biologie Animale - 26200 Montélimar.

\*\* Unité de diagnostic virologique et rickettsiales, Institut Pasteur, Paris.

l'immuno-fluorescence (IF) [3] et l'électrosynérèse (ES) [3]. Toutes ces méthodes présentent certains écueils, notamment :

- la RFC est souvent employée, mais peu spécifique ;
- l'ES est très spécifique, mais permet de détecter des quantités faibles d'anticorps ;
- l'IF est aussi très spécifique, relativement sensible, mais fastidieuse ;
- les tests d'immuno-enzymatique avec une spécificité et sensibilité très élevées sont adaptés à des sérologies en grandes séries.

## I. VACCINS ET VACCINATION

Les animaux vaccinés font partie d'un troupeau de 250 brebis, de race Préalpes, appartenant à l'exploitation Achard - 26200 Sauzet. La monte est assurée par les béliers de la ferme. Les animaux sont logés dans des conditions très satisfaisantes. Deux groupes de 20 brebis de 2 à 3 ans ont été constitués. Tous ces animaux, sauf 4 dans chacun des groupes ont, avant vaccination, une sérologie anti-chlamydienne négative. Les brebis sérologiquement négatives ont reçu 2 fois 2 ml de Rickovis à 1 mois d'intervalle, la première vaccination pratiquée au moment de la monte.

Le Rickovis a la composition suivante pour 10 l de vaccin :

- |  |          |
|--|----------|
| — 275 sacs vitellins infectés de <i>Chl. psitacci</i><br>variété <i>ovis</i>                                   | 7 500 ml |
| — 75 sacs vitellins infectés de <i>Coxiella burnetti</i><br>émulsionnés en eau physiologique formolée à<br>3 ‰ |          |
| — cultures inactivées de <i>Salm. abortus ovis</i> (10 <sup>8</sup> )  | 1 000 ml |
| — cultures inactivées de <i>Salm. abortus ovis</i><br>10 <sup>8</sup> germes/ml                                | 1 000 ml |

### BREBIS GROUPE I

- |   |        |
|---|--------|
| — adjuvant : hydroxyde d'alumine en suspension<br>en eau physiologique à 5 ‰. | 500 ml |
|---|--------|

### BREBIS GROUPE II

- |   |        |
|---|--------|
| — Adjuvant : Labrafil Gattefossé W 1344 | 500 ml |
|---|--------|

### CALENDRIER DES VACCINATIONS ET DES PRISES DE SANG

- |                      |                 |       |
|----------------------|-----------------|-------|
| Avant vaccination    | 9 janvier 1984  | 1° PS |
| Première vaccination | 26 janvier 1984 |       |

Deuxième vaccination	26 février 1984	2° PS
	2 avril 1984	3° PS
	11 mai 1984	4° PS
	12 juin 1984	5° PS
	10 mai 1985	6° PS

## II. TEST IMMUNO-ENZYMATIQUE

Le test est similaire au test immuno-enzymatique pour *Cox. burnetti* [4].

L'antigène est constitué par une suspension purifiée de *Chl. psittaci* var. *ovis*. Cette souche a été fournie par MM. GIAUFFRET et Russo en 1978 et a été entretenue par passages sur sac vitellin de l'œuf embryonné. La suspension contenant  $10^9$  *Chlamydia* par ml, selon la technique de Farre et Edlinger (1980) a été diluée à 1/20 dans un tampon carbonate à pH 8,4 et mélangée avec une solution de 0,3 % de méthylglyoxal, 100  $\mu$ l par cupule ont été distribués sur microplaques (Immulon Micro Elisa de Dynatech).

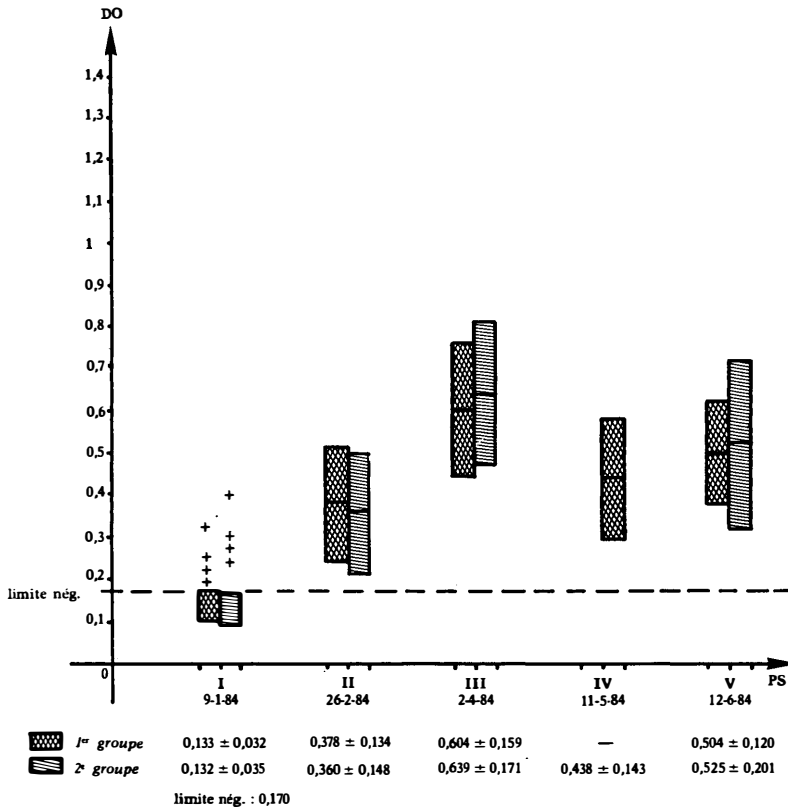
Les plaques sont centrifugées à 1 000 t/min pendant 30 min à 30° C, puis lavées trois fois dans du PBS contenant 0,5% de tween. Les cupules reçoivent alors 200  $\mu$ l d'une solution de 3 % d'albumine bovine en PBS et sont mises à l'étuve pendant 1 h à 37° C, puis de nouveau lavées au PBS. 200  $\mu$ l des sérums à tester, dilués à 1/800 sont distribués dans les cupules qui sont mises à l'étuve à 37° C pendant 1 h en atmosphère humide. Après un triple lavage, 200  $\mu$ l d'une solution d'anti-immuno-globuline ovine marquée à la peroxydase et diluée à 1/20 000 sont versés dans chaque cupule et incubés dans les mêmes conditions que précédemment.

Enfin 200  $\mu$ l de substrat sont ajoutés à chaque cupule : le substrat a été préparé par la dissolution de 40 mg d'orthophénylène diamine (Sigma) dans 100 ml de 0,05 M de tampon de citrate à pH 5,2 et addition de 1,5 ml de peroxydase à 3 %. Les plaques sont gardées à la température du laboratoire. La réaction est arrêtée par addition de 20  $\mu$ l d'acide sulfurique 4 M et la densité optique mesurée sur un lecteur Virion. Le test a toujours été effectué en double. Comme témoins négatifs ont été utilisés les sérums provenant des ovins non vaccinés qui se sont montrés négatifs dans des expériences préliminaires. Comme limite de spécificité, nous avons admis la densité optique (DO) de 0,170 : elle correspond à la moyenne des DO obtenues des sérums négatifs plus la déviation standard multipliée par 1,25. Le seuil a été choisi arbitrairement très élevé pour éviter tout résultat douteux.

## RESULTATS

Les résultats sont réunis dans le graphique ci-après.

Test immuno-enzymatique des deux groupes de brebis vaccinés  
avec *Chlamydia Psittaci*



Dans chaque groupe de 20 brebis, nous avons constaté que 4 d'entre elles présentaient une sérologie positive avant la vaccination. Les autres sérums sont négatifs, car leur DO est au-dessous de la limite de spécificité (première prise de sang).

Les sérums de la deuxième prise de sang (1 mois après la première vaccination) sont tous positifs. Leur moyenne de DO est de 0,378 respectivement pour le groupe I, pour le groupe II de 0,360. Donc les valeurs très rapprochées.

Les sérums du troisième prélèvement de sang (2 mois après la première vaccination) montrent une nouvelle montée des anticorps semblable pour les deux groupes. DO = 0,604-0,639.

Seuls les sérums du deuxième groupe ont pu être testés pour le quatrième prélèvement, leur DO est plus faible que celle du troisième prélèvement, mais nettement plus élevée que celle du deuxième prélèvement et tous les sérums sont positifs. DO = 0,438.

Les sérums du cinquième prélèvement montrent aussi des valences élevées de DO, rapprochées pour les deux groupes. DO = 0,525.

Les sérums du sixième prélèvement (15 mois après la première vaccination) ont une DO très voisine du seuil de positivité pour le premier groupe, supérieur à ce seuil pour le deuxième groupe. DO = 0,200.

Une seule brebis (premier groupe) a une sérologie négative.

### CONCLUSION

Le test immuno-enzymatique permet de déceler la présence d'anticorps anti-chlamydiens chez les brebis vaccinées, 15 mois après la première vaccination. La nature de l'adjuvant ne modifie pas la réponse immunitaire. L'emploi du vaccin adjuvé de gel d'alumine a été retenu car son inoculation n'entraîne pas de réaction locale, ce qui n'est pas le cas du vaccin adjuvé avec le Labrafil.

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] Mc EWEN (A.D.), FOGGIE (A.). — Enzootic abortion of ewes : comparative studies of different vaccines. *Vet. Rec.*, 1954, 66, 393-397.
  - [2] PHILLIP (R.N.), FRANCK (F.W.), LACKMAN (D.B.), PRICE (D.A.), CASPER (E.A.), MEINERSHAGEN (W.A.). — Lambing performance of Idaho sheep vaccinated against naturally occurring enzootic abortion in ewes. *Am. J. Vet. Res.*, 1968, 29, 1153-1158.
  - [3] FARRE (R.), VITTOZ (J.), EDLINGER (E.). — Contrôle sérologique de l'activité d'un vaccin contre la chlamydie ovine. *Bull. Soc. Vét. Prat. Fr.*, 1982, 66, 487-492.
  - [4] ROGES (G.), EDLINGER (E.). — An immuno-enzymatic test for Q-fever. *Diagn. Microb. Infect. Dis.*, 1985 (sous presse).
  - [5] EDLINGER (E.). — Un test immuno-enzymatique pour des anticorps anti-*Chlamydia psittaci* chez les mammifères (sous presse).
-