

Introduction et Objectifs

- ✓ L'entérite nécrotique aviaire (EN) est une maladie entérique multifactorielle des poulets à griller.
- ✓ La maladie est causée par certaines souches pathogènes de *Clostridium perfringens*.
- ✓ Un vaccin offrant une protection complète contre cette maladie n'a pas encore été commercialisé.
- ✓ En utilisant une approche par vaccinologie inverse comparative et soustractive sur seize souches de *C. perfringens* isolées de poulets de chair sains et affectés par l'EN, **quatorze protéines** uniques à six souches de *C. perfringens* causant l'EN et absentes de dix souches commensales ont été identifiées.



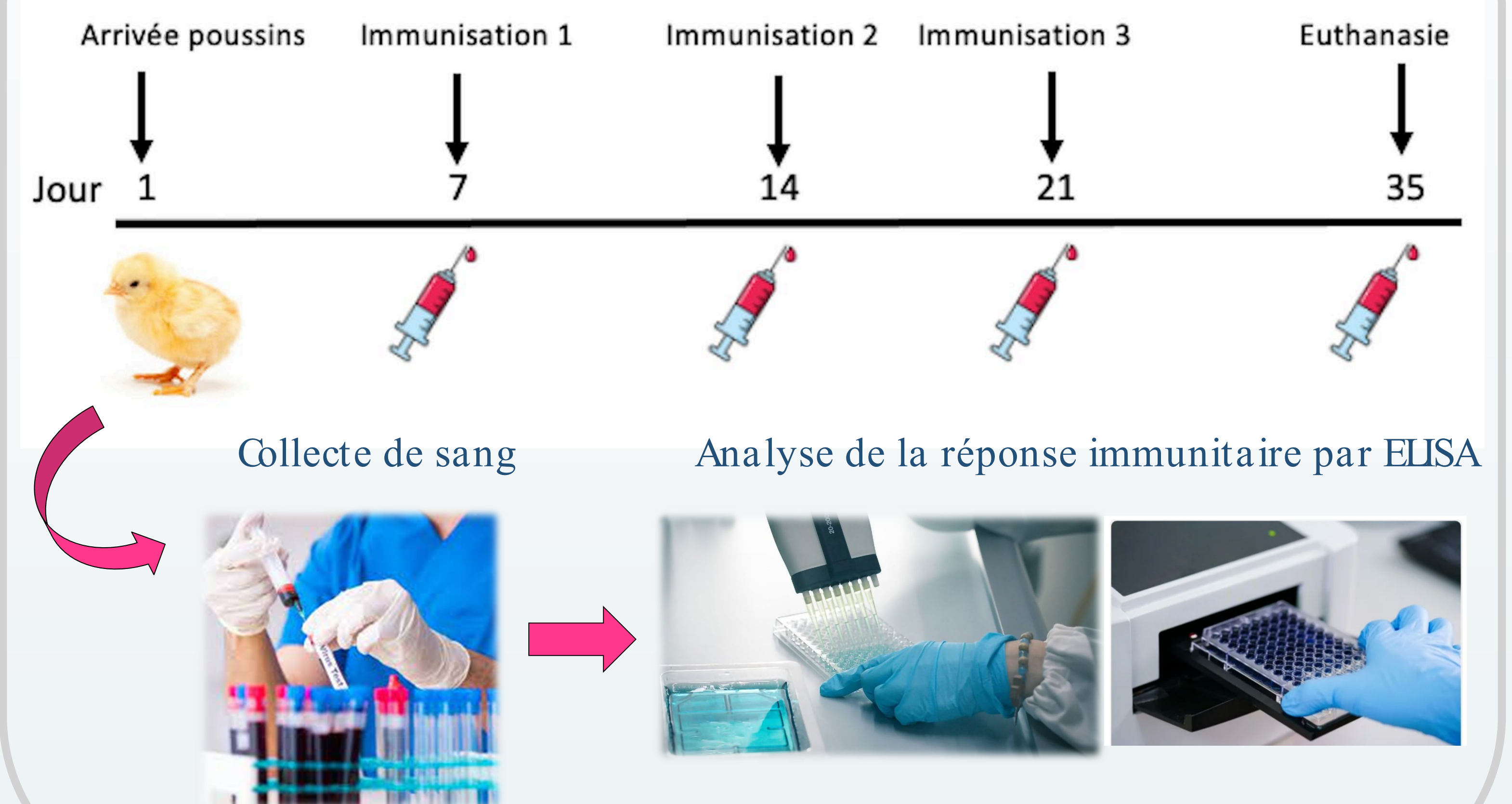
Objectifs de l'étude

- Valider les résultats obtenus *in silico*
- Produire des protéines recombinantes à partir de la séquence codant pour les protéines uniques identifiées,
- Évaluer la capacité de ces protéines recombinantes à initier une réponse immunitaire chez des poulets de chair immunisés par approche ELISA.
- Évaluer la capacité des anticorps générés par les poulets de chair à reconnaître la forme recombinante des protéines par immunobuvardage de type Western.

Méthodologie

- Validation des résultats obtenus *in silico* par PCR et séquençage de type Sanger
- Amplification des gènes d'intérêt par PCR et clonage moléculaire
- Expression des protéines recombinantes en utilisant pET vector and souche de *E. coli* BL21 et purification par FPLC
- Évaluation de l'immunogénicité des protéines par mesure des titres d'immunoglobulines (IgY) lors d'essais d'immunisation chez le poulet de chair

Immunisation des poulets de chair à l'aide des protéines recombinantes



- Validation du pouvoir de reconnaissance des anticorps produits chez le poulet de chair par immunobuvardage de type Western

Résultats et Discussion

- Validation des résultats obtenus *in silico*

Parmi les quatorze protéines candidates au vaccin, **sept** étaient également présentes dans des souches commensales. Les **sept** autres candidates ont été sélectionnées pour le clonage et l'expression des protéines.

- Clonage, expression et purification de protéines

Cinq protéines candidates uniques aux souches pathogènes de *C. perfringens*, parmi les sept retenues, ont été clonées, produites et purifiées, soit: P153, P264, P509, P537 et P561.

- Analyse de la réponse immunitaire par ELISA

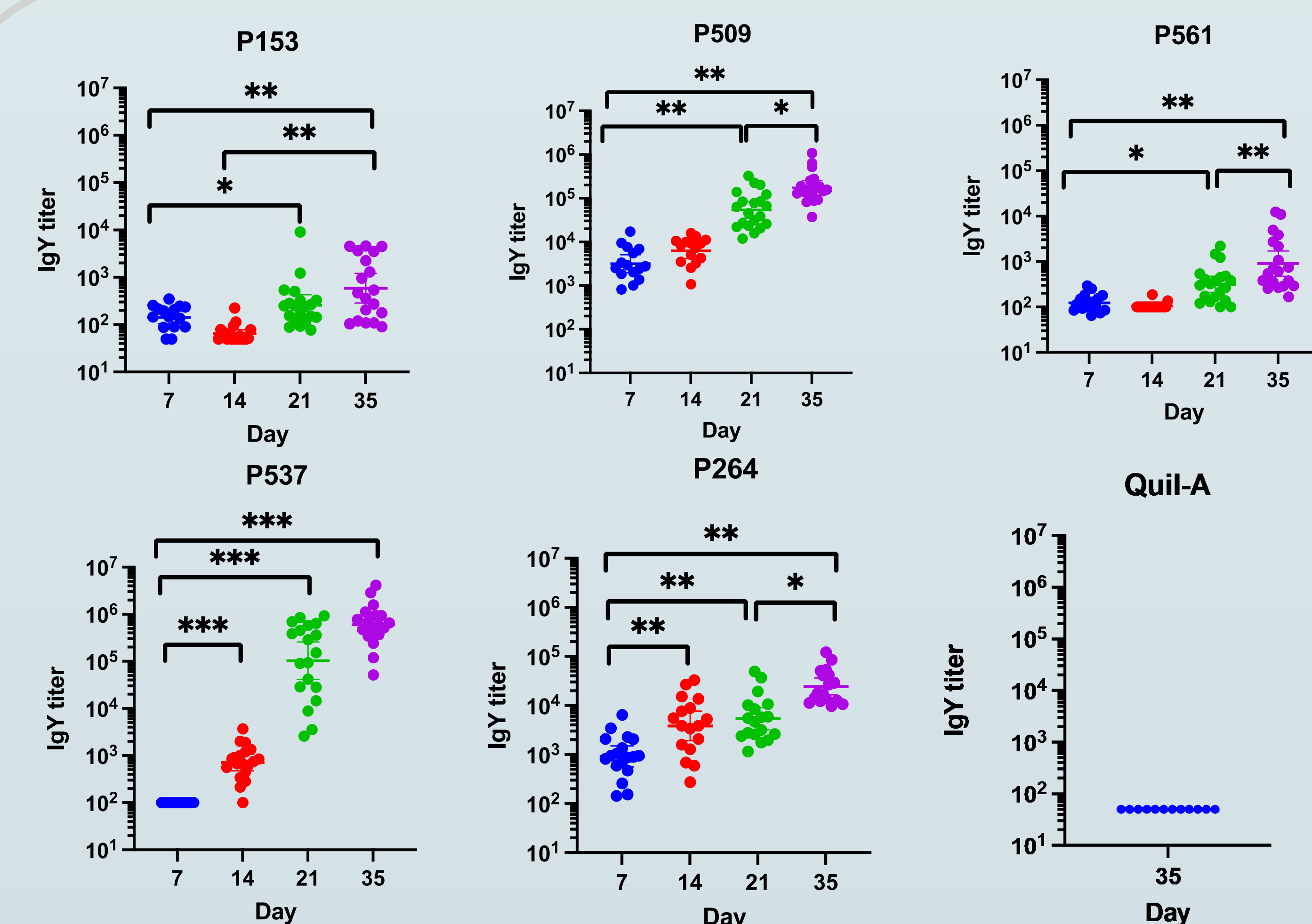


Fig 1. Évaluation des IgY sériques aux jours 7, 14, 21 et 35 par ELISA. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard sur les moyennes de deux répétitions. Les étoiles représentent des résultats les plus significatifs qui sont indiqués par *P ≤ 0,05 ; **P ≤ 0,01 ; ***P ≤ 0,001.

- Les résultats de l'immunotransfert ont montré que les anticorps produits chez les poulets de chair pouvaient reconnaître la forme recombinante des protéines.

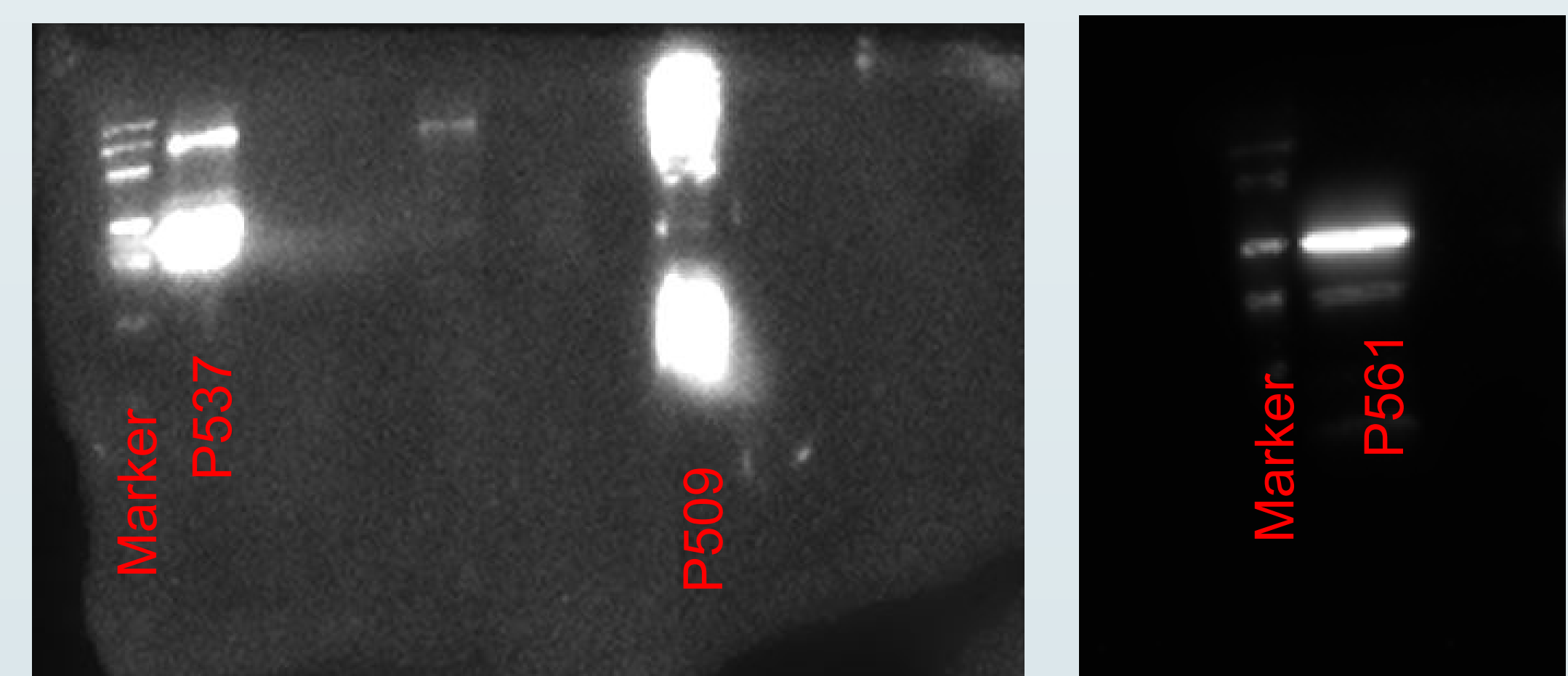


Fig 2. Analyse par immunobuvardage des anticorps anti-P537 et anti-P509 de poulet dans les sérums. Les sérums obtenus d'oiseaux vaccinés au jour 35 ont été utilisés dans des transferts de type immunobuvardage pour identifier quels antigènes sont reconnus.

- ✓ Les résultats de l'étude actuelle soulignent le pouvoir de la vaccinologie inverse pour l'identification rapide de candidats vaccinaux potentiels.
- ✓ Les propriétés immunogènes de ces protéines recombinantes sont prometteuses et une évaluation de leur capacité protectrice contre l'EN est à venir.

Remerciements

