



Anticorps monoclonal anti-BRSV couplé à l'isothiocyanate de Fluorescéine

BIO 032

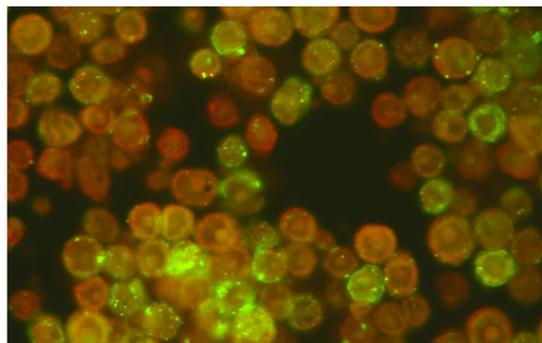
Réactif pour l'immunofluorescence directe

REACTIF POUR LA DETECTION DU VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL BOVIN SUR COUPES D'ORGANES OU CULTURES CELLULAIRES

INTRODUCTION

Le BRSV est en Europe, le premier facteur étiologique responsable des affections respiratoires des jeunes bovidés. Il occasionne chez le bétail comme d'ailleurs chez l'enfant, une atteinte de l'arbre respiratoire profond. L'affection produit très souvent des lésions sévères responsables de pertes économiques importantes. Ainsi, on estime qu'en Europe, 7 millions de veaux souffrent chaque année de problèmes infectieux divers parmi lesquels 60 % seraient respiratoires. Un million de veaux meurent chaque année d'affections respiratoires au sein de la Communauté Européenne. Si on tient compte des frais occasionnés par les traitements, par les retards de croissance et les mortalités, la perte totale est estimée à 450 millions d'EURO pour les veaux de moins d'un an. La perte financière occasionnée par le BRSV au veau laitier est de 25 EURO par animal. Le BRSV touche principalement les jeunes animaux. Le bétail culard paye un lourd tribut à cette affection étant donné le développement important de sa masse musculaire en comparaison de son faible volume pulmonaire. Les manifestations cliniques de l'affection sont la plupart du temps assez sévères. On peut noter habituellement les signes d'une pneumonie sérieuse c'est-à-dire une polypnée accompagnée d'une hyperthermie importante. Les réinfections sont couramment observées mais elles sont la plupart du temps asymptomatiques. Le diagnostic clinique de l'affection est impossible, et il est nécessaire de recourir au laboratoire pour établir un diagnostic précis. L'immunofluorescence directe permet de détecter la présence du BRSV sur des coupes à congélation d'échantillons pulmonaires. Il est préférable de prélever les lobes cranioventraux à la limite entre des territoires lésés et des territoires sains. On retrouve très rarement le virus dans les lobes postérieurs qui sont plus souvent le siège de lésions d'emphysème. Le réactif peut être utilisé pour identifier le BRSV au sein de cellules épithéliales raclées à la surface de la muqueuse pituitaire (écouvillonnage nasal) ou prélevées plus profondément par aspiration transtrachéale ou lavage bronchoalvéolaire. Il est également possible d'utiliser le réactif pour déceler la présence du virus en culture cellulaire.

EXEMPLE DE RESULTAT





Fixer la préparation cellulaire (cellules en culture ou coupes tissulaires) 15 minutes à température ambiante en utilisant un des fixateurs indiqués dans la liste suivante :

- Paraformaldehyde 2 % en PBS
- Solution d'acétone (9 volumes d'acétone et 1 volume d'eau).
- Solution pure d'isopropanol
- Solution d'éthanol absolu

Rincer ensuite au PBS.

Diluer le conjugué au 1/20 dans du PBS - blue Evans préparé selon la formule suivante:

PBS - Blue Evans

NaCl:	8 gr
KH ₂ PO ₄ :	0.2 gr
KCl:	0.2 gr
Na ₂ HPO ₄ . 2H ₂ O:	1.15 gr
Blue Evans:	0.01 gr
NaN ₃ :	0.1 gr
H ₂ O	1 L

Incuber la préparation sur l'échantillon 1 heure à température ambiante. A l'issue de cette période d'incubation, rincer la préparation avec une solution de PBS. Sécher la préparation puis ajouter y le milieu de montage préparé de la façon suivante:

Milieu de montage

Glycerol	9 volumes
PBS	1 volume

Placer une lamelle couvre-objet sur la lame puis observer la à l'aide d'un microscope équipé pour la fluorescence.

COMPOSITION: Un flacon de 500 µl

CONSERVATION DU CONJUGUE: Le conjugué peut être conservé à 4°C plus d'un an dans son flacon d'origine. Ne jamais congeler ce réactif. La stabilité du conjugué dilué dans la solution de PBS Blue Evans est de une semaine à 4°C.

STABILITY: One year at 4°C

