



Anticorps monoclonal anti-Parainfluenza 3 bovin

BIO 290

Réactif pour l'immunofluorescence ou l'immunoperoxydase indirect

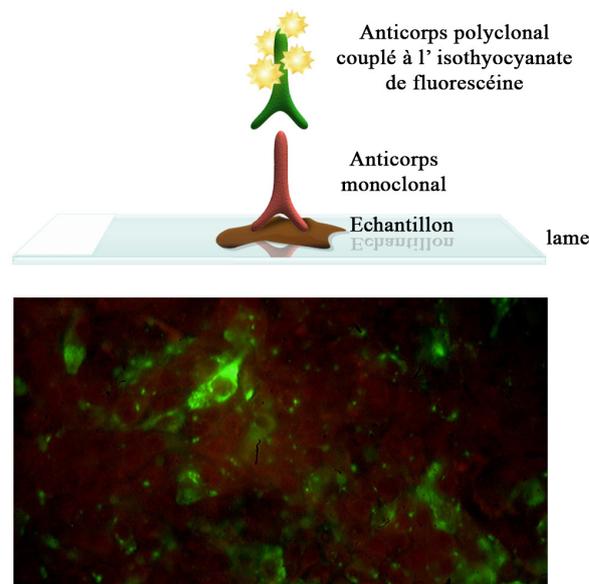
REACTIF POUR LA DETECTION DU PARAINFLUENZA 3 BOVIN SUR COUPES D'ORGANES OU CULTURES CELLULAIRES

INTRODUCTION

Le virus parainfluenza 3 a été isolé pour la première fois aux Etats-Unis à partir du mucus nasal d'un bovin montrant des symptômes cliniques de fièvre des transports (shipping fever). On a pu démontrer que la distribution de ce virus était mondiale au sein des populations de bovins. La plupart des cas de contamination du bétail par le virus parainfluenza 3 ont été trouvés dans des groupes de jeunes veaux présentant des symptômes respiratoires tels que de la pneumonie enzootique. Les infections par le virus PI3 ne sont pas toujours suivies de symptômes cliniques et il n'est pas rare de mettre en évidence des séroconversions franches sur des animaux n'extériorisant aucuns troubles (infections subcliniques). En Europe, les infections par le virus PI3 sont plus courantes au cours de l'hiver c'est-à-dire entre octobre et mars. Les infections du bétail par le virus PI3 peuvent être accompagnées par une infection de l'arbre respiratoire par d'autres virus tels que le virus respiratoire syncytial bovin (BRSV), les adénovirus ou le virus de la maladie des muqueuses (BVDV). Lors de troubles respiratoires au sein d'une exploitation, il n'est pas possible de diagnostiquer le PI3 en se basant sur les seuls symptômes cliniques. L'immunofluorescence directe permet de détecter la présence du Parainfluenza 3 bovin 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 peut également rechercher le virus au sein des tissus épithéliaux des parties supérieures de l'arbre respiratoire (grosses bronches, trachée, muqueuse pituitaire). Il est possible d'utiliser le réactif pour déceler la présence du virus en culture cellulaire.

EXEMPLE DE RESULTAT

EXEMPLE DE RESULTAT





I – PROTOCOLE POUR L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE

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 de préférence dans une chambre humide. A l'issue de cette période d'incubation, rincer la préparation avec une solution de PBS. Ajouter ensuite le conjugué (un anti-immunoglobulines de souris couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine) dilué en suivant le protocole du fabricant. Le conjugué disponible chez Bio-X Diagnostics (BIO 305) doit être dilué au 1/20 en PBS - blue Evans.

Incuber la préparation sur l'échantillon 1 heure à température ambiante de préférence dans une chambre humide

Après cette seconde incubation, rincer la préparation au 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.

La stabilité du conjugué dilué dans la solution de PBS Blue Evans est de une semaine à 4°C.





II – PROTOCOLE POUR L'IMMUNOPEROXYDASE INDIRECTE

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 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
Na ₃ N:	0.1 gr
H ₂ O	1 L

Incuber la préparation sur l'échantillon 1 heure à température ambiante de préférence dans une chambre humide. A l'issue de cette période d'incubation, rincer la préparation avec une solution de PBS. Ajouter ensuite le conjugué (un anti-immunoglobulines de souris couplé à la peroxydase) dilué en suivant le protocole du fabricant. Le conjugué disponible chez Bio-X Diagnostics (BIO 269) doit être dilué au 1/50 en PBS.

Incuber la préparation sur l'échantillon 1 heure à température ambiante de préférence dans une chambre humide

Après cette seconde incubation, rincer la préparation au PBS.

Ajouter ensuite le chromogène (AEC, TMB précipitant, DAB etc...) et le substrat (peroxyde d'hydrogène) en suivant le protocole du fabricant. Observer la préparation au microscope et rechercher la présence de zones colorées.

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.

