

Avian metapneumovirus (APV)

Anticuerpo Monoclonal específico de N de APV N/APV specific Monoclonal Antibody

INTRODUCCIÓN / INTRODUCTION

El pneumovirus aviar (APV) causa una enfermedad respiratoria en pavos y otras especies aviares. Perteneció al género Metapneumovirus. Anteriormente conocida como rinotraqueítis aviar, la infección por APV de los pollos se conoce como síndrome de la cabeza hinchada (SHS). En los pavos la enfermedad está caracterizada por estornudos, estertores traqueales, secreciones nasales y oculares y sinusitis infraorbital, así como conjuntivitis. La mortalidad normalmente no excede del 2-5% aunque la morbilidad puede alcanzar el 10%. Puede provocar una reducción substancial en la producción de los huevos (10-30%) con las consiguientes pérdidas económicas. Originalmente se han descrito 2 subgrupos, A y B, según la secuencia nucleotídica de la glicoproteína de unión G. Los primeros aislados americanos fueron divergentes tanto genética como antigénicamente dando lugar a un nuevo subgrupo, C, hablándose incluso de un nuevo serotipo. Finalmente, aislamientos franceses obtenidos a mediados de los años 80 divergen de los 3 subgrupos proponiendo la creación de un nuevo y último subgrupo, D. APV es un virus RNA de cadena sencilla, polaridad negativa con envuelta, que codifica para 8 proteínas estructurales. Tiene un genoma de aproximadamente 13.3 kb. Entre todas las proteínas cabe destacar la glicoproteína de unión G y la glicoproteína de fusión F como principales antígenos protectores y neutralizantes así como la proteína de la nucleocápsida, N, por su alto grado de conservación entre los subtipos.

Avian pneumovirus (APV) causes a respiratory disease in turkeys (turkey rhinotracheitis) and others avian species (Swollen head syndrome, in chickens). It belongs to the genus Metapneumovirus. In turkeys, the disease is characterized by rales and nasal discharge, conjunctivitis, swelling of the infraorbital and submandibular sinuses. Mortality isn't higher than 2-5% although morbidity can reach up to 10%. It can decrease the eggs production in 10-30% with the consequent economic loss. According nucleotides sequence of the union G glycoprotein, 2 groups were originally described, A and B. The first American isolates were genetically and antigenically different so a new group was described, C. Finally, French isolates obtained in the 80's were different to the other 3 and a fourth group, D, was defined. APV is a simple RNA virus, with negative polarity and an envelope, which codifies for 8 structural proteins. The genome is 13.3 Kb. Glycoproteins G and F are the main neutralizing antigens and the N protein is the most conserved between different subtypes.

DESCRIPCIÓN / DESCRIPTION

El Hibridoma productor del anticuerpo monoclonal ha sido obtenido a partir de linfocitos de bazo de ratón Balb/c fusionados con células del mieloma X63/Ag8653. Purificado por HPLC mediante una columna de intercambio iónico presenta una pureza del 99%, su isotipo es IgG_{2b} y es específico de la proteína N de APV.

The hybridoma which produces the monoclonal antibody has been obtained by the fusion of lymphocytes from Balb/c mice's spleen with myeloma X63/Ag8653 cells. The IgG has been purified by HPLC presenting a purity of 99%, its isotype is IgG_{2b} and it is specific for APV's N protein.

APLICACIONES / APPLICATIONS

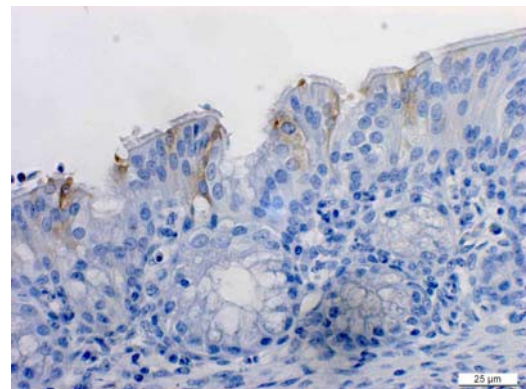
Detección APV mediante la técnica de Inmunohistoquímica (IHO).

Detection of APV by Immunohistochemistry (IHC) technique.

Detección APV mediante la técnica de Inmunofluorescencia indirecta (IFI).

Detection of APV by indirect immunofluorescence technique (IFI).

RESULTADOS / RESULTS



Cornete nasal de pollo infectado con APV-A / Nasal turbinates of the APV-A infected chickens!

Isotype	ELISA APV-C	WB APV-B	IIF APV-A	IIF APV-B	IHC APV	
					A	B
IgG _{2b}	+	+	++	+	++	ND



DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO IHQ / IHC PROCEDURE¹

Se utiliza como muestra corneal nasal de pollo. Las muestras se fijan en formol durante 24-92 horas y se incluyen en parafina mediante procedimientos estándares. Se obtienen cortes, se desparafinan y rehidratan mediante baños en alcohol de diferentes grados. La actividad peroxidasa endógena se bloquea mediante incubación con peróxido de hidrógeno. Posteriormente, los cortes se sumergen en buffer citrato 10mM (pH 6) y se incuban a 98°C durante 20 min. Se incuban con suero de cabra negativo diluido 20% en tampón Tris 0,1 M durante 1 hora a temperatura ambiente y después se incuban con el anticuerpo monoclonal una noche a 4°C (Ver condiciones de uso recomendadas para dilución. Atención, el sobrenadante se suministra listo para usar). Como anticuerpo secundario, se utiliza suero de cabra anti-ratón biotinilado a dilución 1: 200 seguido de la incubación del complejo ABC diluido 1: 100 en Tris durante 1 hora a temperatura ambiente. Finalmente, se incuban en una solución de TBS con diaminobencidina (DAB)-hidrógeno peroxidasa durante 10 min., se tiñen con Hematoxilina Harris, se deshidratan y se cubren.

Nasal turbinates of the APV-infected chickens are fixed in neutral buffered formalin for 24-92 hr, and then embedded in paraffin by standard procedures. The slides obtained are deparaffined, and rehydrated through graded alcohols. The endogenous peroxidase activity is blocked by incubation with hydrogen peroxide and the slides are then immersed in 10 mM citrate buffer (pH 6) in bathwater at 98° C for 20 min. Incubate with 20% negative goat serum solution in 0.1 M Tris-buffered saline for 1 hour at room temperature, followed by another incubation with the mouse monoclonal antibody at 4° C overnight (See recommended use conditions for dilution. Note that the supernatant is supplied ready to use). As a secondary antibody, biotinylated goat anti-mouse at 1:200 is used, followed by an ABC complex diluted 1:100 in TBS, applied for 1 hour at room temperature. Sections are finally incubated in TBS with diaminobenzidine (DAB)-hydrogen peroxide solution for 10 min., counterstain with Harris's haematoxylin, dehydrate and cover with a cover slip.

CARACTERÍSTICAS / CHARACTERISTICS

AcM / MAb	Isotipo / Isotype	Especificidad / Specificity
7D3	IgG _{2b}	N PROTEIN

PRESENTACIÓN / FORMAT

Disponible en dos presentaciones / Two formats available:

PRESENTACIÓN / FORMAT	CANTIDAD / QUANTITY	CONCENTRACIÓN / CONCENTRATION (aproximada / approximated)	REFERENCIA / REFERENCE
Sobrenadante / Supernatant	5 ml	10-20 µg / ml	M.18.TRT.B7D3
Purificada / Purified	1 ml	1mg / ml	M.18.TRT.I7D3

CONSERVACIÓN / STORAGE

-20°C

REFERENCIAS / REFERENCES

¹ Natàlia Majó Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona

PRODUCTO DESARROLLADO POR INGENASA / PRODUCT DEVELOPED BY INGENASA

Inmunología y Genética Aplicada, SA
C/ Hermanos García Noblejas 39
28037. MADRID



Tel.: +34- 91 3680501
Fax: +34- 91 4087598
www.ingenasa.com

Última revisión / Last review: 250117