



Detection of specific antibody responses to vaccination in variable flying foxes (*Pteropus hypomelanus*)

James F.X. Wellehan Jr.^{a,*}, Linda G. Green^b,
Diane G. Duke^b, Shadi Bootorabi^b, Darryl J. Heard^a,
Paul A. Klein^c, Elliott R. Jacobson^a

^a Department of Small Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine,
University of Florida, Gainesville, FL 32610, USA

^b Interdisciplinary Center for Biotechnology Research Hybridoma Core Laboratory,
University of Florida, Gainesville, FL 32610, USA

^c Department of Pathology, Immunology, and Laboratory Medicine, College of Medicine,
University of Florida, Gainesville, FL 32610, USA

Accepted 1 November 2007

Abstract

Megachiropteran bats are biologically important both as endangered species and reservoirs for emerging human pathogens. Reliable detection of antibodies to specific pathogens in bats is thus epidemiologically critical. Eight variable flying foxes (*Pteropus hypomelanus*) were immunized with 2,4-dinitrophenylated bovine serum albumin (DNP-BSA). Each bat received monthly inoculations for 2 months. Affinity-purified IgG was used for production of polyclonal and monoclonal anti-variable flying fox IgG antibodies. ELISA and western blot analysis were used to monitor immune responses and for assessment of polyclonal and monoclonal antibody species cross-reactivity. Protein G, polyclonal antibodies, and monoclonal antibodies detected specific anti-DNP antibody responses in immunized variable flying foxes, with protein G being the most sensitive, followed by monoclonal antibodies and then polyclonal antibodies. While the polyclonal antibody was found to cross-react well against IgG of all bat species tested, some non-specific background was observed. The monoclonal antibody was found to cross-react well against IgG of six other species in the genus *Pteropus* and to cross-react less strongly against IgG from *Eidolon helvum* or *Phyllostomus hastatus*.

* Corresponding author at: Zoological Medicine Service, Department of Small Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, University of Florida, Gainesville, FL 32610, USA. Tel.: +1 352 392 4700.

E-mail address: wellehanj@mail.vetmed.ufl.edu (J.F.X. Wellehan Jr.).

Protein G distinguished best between vaccinated and unvaccinated bats, and these results validate the use of protein G for detection of bat IgG. Monoclonal antibodies developed in this study recognized immunoglobulins from other members of the genus *Pteropus* well, and may be useful in applications where specific detection of *Pteropus* IgG is needed.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Bats; Flying fox; *Pteropus hypomelanus*; Antibody; Protein G; ELISA

Résumé

Les chauves-souris du groupe mégachiroptère sont importantes au point de vue biologique, parce qu'elles représentent un réservoir pour de nouvelles maladies humaines. La possibilité de détecter leurs anticorps contre des pathogènes spécifiques est donc critique au point de vue épidémiologique. Huit roussettes des îles (*Pteropus hypomelanus*) furent injectées avec de l'albumine de sérum bovin (2,4-dinitrophenylated bovine serum albumin, DNP-BSA) deux fois, à quatre semaines d'intervalle. Les anticorps IgG à affinité purifiée furent utilisés pour produire les anticorps mono- et polyclonaux IgG de chauves-souris. La réponse immunitaire des animaux et la réaction croisée entre les anticorps de différentes espèces furent mesurés avec l'ELISA et l'analyse de Western blot.

Au jour 56 après l'injection, une magnification de la densité optique (optical density, OD₄₀₅) entre 4 et 17 fois a été mesurée lorsque la protéine G fut utilisée comme agent. Quand des anticorps polyclonaux de lapins souris furent utilisés, la magnification fut de 1.4 à 2, alors que lorsque des anticorps monoclonaux de souris furent utilisés, la magnification fut de 1.7 à 7.

La protéine G, les anticorps mono et polyclonaux ont réussi à détecter une réponse immunitaire contre l'agent DNP chez les roussettes. Malgré que les anticorps polyclonaux aient réussi à faire une réaction croisée avec les IgG des chauves-souris, il y avait aussi beaucoup d'interférences.

Les anticorps monoclonaux ont très bien réagi avec 6 autres espèces du genre *Pteropus*, mais moins bien avec les espèces *Eidolon helvum* ou *Phyllostomus hastatus*. La protéine G fut utile pour distinguer les animaux vaccinés des naïfs, et ces résultats valident l'utilisation de la protéine G pour la détection des anticorps IgG chez les chauves-souris.

Les anticorps monoclonaux développés dans ce projet a aussi pu détecter les immunoglobulines de d'autres membres de la famille *Pteropus*, et leur usage pourrait être utile dans certains cas où l'on a besoin de détecter les anticorps IgG.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Mots clés : Chauves-souris ; Roussette ; *Pteropus hypomelanus* ; Anticorps ; Protéine G ; ELISA

1. Introduction

Bats are the second largest mammalian order, Chiroptera, with approximately 1100 species [1]. The variable flying fox, *Pteropus hypomelanus*, is a megachiropteran bat that inhabits Sulawesi and small islands from the Bay of Bengal and the Malay Peninsula to New Guinea and the Solomon Islands. The range of this species is fragmented, and rapid habitat destruction is occurring throughout the range. Since 1989, it has been listed as CITES appendix II. There are seven subspecies of this bat, the most endangered being *P. hypomelanus maris*, found on the Maldives [2]. The greatest threat to the variable flying fox is human predation and habitat destruction. This bat is heavily hunted and is exported for food in the Philippines. Residents of Guam have imported large numbers of *Pteropus* spp.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/2428508>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/2428508>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)