

Producción de anticuerpos policlonales en ratas, ratones y en conejos

Poque M^{1,2}, Unrein F^{1,2}, Palacio S^{1,2}, Rebelindo E^{1,2}, Stalder V^{1,2}, Orlandini A^{1,2}, Neme L¹, Matiller V^{1,2}, Pereyra E^{1,2}.

¹ Centro de Medicina Comparada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina. ² Facultad de Ciencias Veterinarias del Litoral, UNL, Esperanza, Santa Fe, Argentina.

En el Centro de Medicina Comparada (CMC) (ICIVET Litoral, UNL /CONICET) se realizan ensayos biológicos con animales de laboratorio con un enfoque hacia la investigación aplicada y a la realización de servicios demandados por las empresas, y grupos de investigación y desarrollo del sistema científico-tecnológico, bajo normas internacionales de ética en cuidado y uso de animales de laboratorio. Los ensayos siguen los lineamientos establecidos en Procedimientos Operativos Estandarizados (POEs), Técnicas analíticas (TA) que han sido evaluados y auditados por diferentes organismos y que garantizan el desarrollo de los mismos siguiendo estrictas normas de calidad. Los POEs son los procedimientos escritos que garantizan la uniformidad, reproducibilidad y consistencia de las características de los productos o procesos realizados a partir de los cuales se detallan funciones, responsabilidades y descripción detallada de los procedimientos a realizar¹.

Entre los ensayos ofrecidos por el CMC, se encuentran la producción de anticuerpos policlonales en ratas, ratones y conejos siguiendo lineamientos específicos en cuanto a la preparación de la emulsión del antígeno con el adyuvante, las inmunizaciones primarias y subsecuentes, las tomas de muestras de sangre y sueros, descriptos en diferentes POEs. El objetivo de este ensayo es la obtención de suero enriquecido con las diferentes poblaciones de inmunoglobulinas, específicas para reconocer determinantes antigénicos o epitopes dirigidos hacia el antígeno con el cual fue inmunizado el animal^{2,3}.

Para realizar estos ensayos se utilizan ratones y ratas de aproximadamente 6 semanas de edad, y conejos con un peso corporal de 2,5 a 3,5 kg y 10 a 16 semanas de edad en perfecto estado de salud. Los procedimientos de este ensayo son similares para todas las especies. En primera instancia se obtiene suero basal. Luego, se homogeneiza el antígeno con el adecuado adyuvante hasta obtener una emulsión estable y se administra a los animales. Para la primera inoculación se utiliza el adyuvante completo de Freund, mientras que en las inoculaciones posteriores se usa el adyuvante incompleto de Freund. Estas inmunizaciones están separadas entre 2 a 3 semanas según la solicitud del comitente, siempre considerando el tiempo requerido para una adecuada respuesta.

Las inoculaciones varían según la especie, pueden realizarse por la vía subcutánea o a través de la vía intradérmica en conejos, mientras que en roedores pueden ser por vía subcutánea o vía intraperitoneal. La vía de administración más usual es la subcutánea.

En los conejos los sitios de inyección se deberán encontrar separados sobre el área dorsal del animal con al menos 2 cm entre sitios y al menos 3 a 4 cm de la columna vertebral para evitar inyecciones accidentales en los músculos espinales. De esta manera, se distribuye el antígeno sobre una mayor superficie, permitiendo una mayor exposición del sistema inmune, resultando en títulos más elevados mientras se reduce la incidencia de respuestas inflamatorias locales severas y abscesos. Administrando un máximo de 0,2 ml de la emulsión del antígeno y del adyuvante en un máximo de 10 sitios de inoculaciones.

Por otro lado, en los ratones y ratas se administra un máximo de 0,1 ml de la emulsión de antígeno y adyuvante en no más de 2-4 sitios.

Una vez alcanzado el título adecuado o luego de 10-14 días de la última inmunización, se procede a la extracción total de sangre del animal por vía intracardiaca. Este procedimiento se realiza bajo anestesia

VII JORNADA DE DIFUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN

Noviembre 2019. Esperanza. Santa Fe. Argentina.

Área temática: **SALUD ANIMAL**

total del animal, siguiendo los procedimientos correspondientes que aseguran el bienestar del individuo en este proceso. La sangre obtenida es depositada cuidadosamente en tubos, preferentemente de vidrio, debidamente rotulados, de manera tal de evitar la hemólisis de la muestra.

Los tubos con la sangre se colocan durante 30 minutos a 1 hora en baño termostático húmedo de 37°C para favorecer la formación del coágulo sanguíneo y luego a 4°C de 1 a 3 horas para lograr la retracción del mismo. Luego se centrifuga la muestra por 10 minutos a 3000 g y se separará el suero obtenido, colocándolo en tubos rotulados y almacenados a -20°C hasta el envío al destino correspondiente.

Finalizados todos los procedimientos, se emite un informe detallado con las actividades realizadas, que respalda el trabajo realizado.

Es importante resaltar que el personal actuante está debidamente entrenado para realizar todas estas actividades, es consciente de la importancia de la ejecución correcta de cada uno de sus pasos y conocen el sistema de gestión de calidad, las normativas vigentes que rigen en el CMC. De esta manera, siguiendo los lineamientos protocolizados establecidos en el CMC, normas de calidad certificadas en el Centro y las guías sobre ética y bienestar para el cuidado y uso de animales de laboratorio, se garantiza la calidad del servicio brindado.

Bibliografía

- 1-ANMAT (1996). Disposición 6344/96: Reglamentación para bioterios de laboratorios, elaboradores de especialidades medicinales y/o de análisis para terceros, 5.
- 2-Harlow y Lane (1988). Antibodies a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- 3-UC- Berkeley Animal Care and Use Committee (2006). Guidelines for polyclonal antibody production in laboratory animals.