



OBTENCIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES (AcM) ANTI-ENTEROTOXINA ESTAFILOCOCCICA TIPO B (EEB)

Felipe López Pacheco; Gabriela Nájera Sánchez y Jesús Alarcón Bonilla, Km 37.5 Carretera Federal México Pachuca, Sierra Hermosa, Tecámac, Edo. Mex. C.P. 55740, 01(55)5938-8458, jabbio@hotmail.com

Anticuerpos monoclonales, enterotoxina estafilocócica

Introducción. Dentro de las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's), la intoxicación estafilocócica constituye un problema de salud pública a nivel mundial. Es transmitida por el consumo de alimentos contaminados con enterotoxinas termoestables producidas por *Staphylococcus aureus* (1). La enterotoxina estafilocócica tipo B (EEB) es la más frecuentemente involucrada en este tipo de brotes. El diagnóstico de la intoxicación estafilocócica se realiza principalmente por métodos inmunológicos, dentro de estos el más utilizado es el de ELISA indirecto. Para ello es necesario contar con los anticuerpos (Ac) específicos, dentro de los cuales, los anticuerpos monoclonales (AcM) son muy específicos y selectivos en el reconocimiento de las enterotoxinas (2).

Objetivo. Obtener anticuerpos monoclonales anti-enterotoxina Tipo B.

Metodología. Se inmunizaron ratones hembra Balb-C singénicos de 4 semanas de edad con 100 µL de EEB (0.4 µg/mL) por vía intraplantar, subcutánea e intraesplénica; el suero se obtuvo por vía retroorbital y caudal. El título de anticuerpos policlonales y monoclonales así como en la selección primaria de los hibridomas, se evaluó por el método de ELISA indirecto. La descongelación, acondicionamiento y propagación de la línea celular X63Ag8.653 de mieloma murino, se realizó en medio RPMI-1640 con 10 % de suero fetal bovino (SFB), incubando a 37° C en atmósfera húmeda con 5 % de CO₂. La viabilidad de la línea celular y de los esplenocitos murinos, se evaluó por conteo celular en una cámara de Neubauer, donde el % de viabilidad = (cel. viables/cel. totales)x100. La fusión celular de los esplenocitos y las células de mieloma, se realizó en relación 10:1 en medio RPMI-1640 sin SFB y con polietilenglicol (PEG). La selección celular se realizó en medio RPMI-1640 HAT, finalmente la clonación y selección de los hibridomas se realizó por la técnica de dilución limitante.

Resultados y discusión. Al término del esquema de inmunización, en el suero de los ratones se obtuvieron títulos de anticuerpos anti-EEB desde 1:1000 hasta 1:4000, teóricamente a mayor título de anticuerpos, mayor posibilidad de obtener hibridomas específicos, por lo tanto los bazos de los ratones con mayor título de anticuerpos se seleccionaron para la fusión. Después de la estandarización del método de ELISA indirecto, los títulos utilizados fueron: 1:2000 para la EEB, 1:3000 para la antitoxina de referencia, 1:5000 para el conjugado y 1:10 para el sustrato de enzima. Este método se utilizó para titular los anticuerpos en el suero de ratones, seleccionar los hibridomas productores de anti-

EEB y cuantificar el título de anticuerpos monoclonales. La viabilidad de los esplenocitos murinos fue del 93 % y la de la línea celular del mieloma fue del 95 %. Después de la fusión de ambas líneas celulares se llevó a cabo la selección de los híbridos (esplenocito-mieloma) utilizando medio RPMI-1640 adicionado de HAT y posteriormente medio adicionado de HT. Finalmente la clonación se realizó utilizando los cuatro híbridos que dieron los títulos más altos de anticuerpos anti-EEB. Las cuatro clonas productoras de anticuerpos anti-EEB obtenidas tuvieron una viabilidad del 96 % por lo tanto, se propagaron y se mantienen congeladas en nitrógeno líquido.

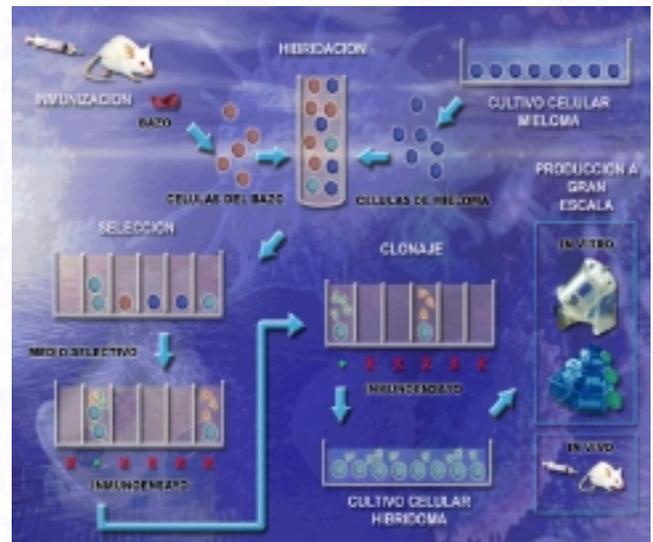


Fig.1 Esquema general para la producción y obtención de AcM

Conclusiones. Se obtuvieron cuatro clonas productoras de anticuerpos monoclonales anti-EEB, los cuales serán utilizados como una herramienta en el diagnóstico de la intoxicación estafilocócica por métodos inmunológicos y en la demostración de la presencia de la EEB en los alimentos involucrados en brotes de intoxicación alimentaria causados por *Staphylococcus aureus*.

Agradecimiento. A los Laboratorios de Especialidades Inmunológicas por el apoyo material y financiero.

Bibliografía. 1.Fernández E.E. (2000) *Microbiología e inocuidad de los alimentos*. U.A. de Qro., México. 322-345. 2. Lapeyre, C. (1987) Production and Characterization of Monoclonal Antibodies to Staphylococcal Enterotoxins: Use in Immunodeteccion and Immunopurification". *Pergamon J.* 24(2): 1243-1253