

Obtención, purificación y evaluación de inmunoglobulina Y (IgY) específicas con fines diagnósticos y terapéuticos

Toso, R.E.; Alvarez Rubianes, N.; Gastaldo, M.; Toribio, M.S.; Ardoino, S.M.; Boeris, M.A.

CIDEF, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam. General Pico, La Pampa.

La hiperinmunización de gallinas con vistas a obtener IgY específicas contra enfermedades de otras especies es un método altamente eficiente, no estresante ni invasivo para las mismas. Permite generar grandes cantidades de anticuerpos específicos, los cuales se pueden aislar, purificar y cuantificar por métodos relativamente simples y económicos. Estos anticuerpos específicos pueden ser usados para brindar inmunidad pasiva, instaurar tratamientos, como aditivo alimenticio en reemplazo de antibióticos promotores de crecimiento o para diagnóstico. Esta última aplicación es de gran valor debido la alta especificidad brindada por la amplia distancia filogenética entre las especies involucradas, implica una alta confiabilidad de los resultados y disminuye notablemente la aparición de falsos negativos. En este proyecto se evaluaron diferentes métodos de extracción, purificación y cuantificación de IgY específicas para el modelo de caracterización y aplicación de las IgY contra *Lawsonia intracellularis*. Para la extracción de las IgY se seleccionó el método de deslipidación mediante la técnica de precipitación con polietilenglicol. El contenido de proteína de las muestras obtenidas se mide fotométricamente a 280 nm con un coeficiente de extinción de 1,33 para IgY. Posteriormente se determina la concentración de IgY específicas contra *Lawsonia intracellularis* mediante ELISA utilizando anti IgY producida en conejo marcada con peroxidasa. El grado de pureza y recuperación de las IgY se realiza mediante SDS-PAGE, con geles T 4-20% coloreados con Coomassie Blue permitiendo la visualización de las IgY como una única banda de 180.000 Da. En este proyecto se ha seleccionado *Lawsonia intracellularis* como antígeno inductor de inmunidad, debido a las pérdidas económicas que provoca en la actualidad la Enteropatía Proliferativa Porcina. El modelo de obtención de

anticuerpos propuesto en este proyecto evita el empleo de equinos hiperinmunizados, los cuales deben someterse a continuas extracciones de sangre para obtener los anticuerpos. Desde el punto de vista del bienestar animal este proceso es beneficioso, ya que las gallinas transmiten la inmunidad a través de un proceso natural como es la postura, haciendo innecesario el empleo de equinos para obtención de suero. Otras ventajas del modelo seleccionado en este proyecto son; a) las aves producen en corto tiempo mayor cantidad de anticuerpos a las obtenidas por el método tradicional de hiperinmunización y sangrado de equinos. b) la extracción de los anticuerpos no se realiza por punción, ya que las aves ponen el huevo naturalmente y no deben ser obtenidos por técnicas invasivas. c) los métodos de extracción, purificación y evaluación de IgY son relativamente simples y tienen un costo razonable. d) el equipamiento necesario es accesible y puede ser operado por personal entrenado sin dificultad, lo cual hace posible que estos desarrollos puedan llevarse a cabo en laboratorio de mediana complejidad. e) la obtención de anticuerpos por este método reduce sensiblemente los costos de producción versus los métodos tradicionales de fabricación de anticuerpos policlonales. f) el costo de mantenimiento y el espacio que se debe dedicar para alojar las aves es notablemente inferior a la necesaria para mantener equinos, lo que redundará en una optimización de los costos de producción.