

Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado

## Obtención del suero anti IgG humano con la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico

**Dra. C. Clara Martínez Manrique,<sup>1</sup> MsC. Vivian Tamayo Ortega<sup>2</sup> y Dr. C. Gustavo Sierra González<sup>3</sup>**

Las tendencias modernas en la obtención de preparados biológicos como sueros policlonales, anticuerpos monoclonales y vacunas van hacia el uso de antígenos cada vez más puros. Esto requiere la activación de la respuesta inmune con mayor especificidad, eficacia y a su vez menor toxicidad. Dichos objetivos pueden lograrse con una selección adecuada de los adyuvantes inmunológicos.

Actualmente son evaluadas muchas sustancias como adyuvantes inmunológicas, se priorizan las de origen natural, obtenidas a partir de plantas como el mistetloe, de algas y hongos (glucanos), otras que se incluyen dentro de los adyuvantes derivados de microorganismos, como el lipopolisacárido bacteriano y los proteoliposomas. También están las de origen químico como: hidróxido de aluminio, fosfato de calcio, sulfato de dextrano, levamisol y liposomas, entre otras.<sup>1</sup>

Por último, los productos del sistema inmune ocupan un lugar importante dentro de los adyuvantes de nueva generación, aquí se encuentran las citocinas IL-2 e interferones, las quimoquinas y sustancias coestimuladoras, las cuales se utilizan fundamentalmente para la obtención de vacunas de ADN.<sup>2, 3</sup> Sin embargo, la mayoría de estas sustancias poseen efectos tóxicos locales o sistémicos que pueden invalidar sus usos en humanos o animales, aunque sean eficaces. Por otro lado, su proceso de obtención es complejo y caro, de modo que limita su incorporación al mercado.

Se ha demostrado que el sistema inmune es sensible a los efectos del campo magnético, así como el agua tratada magnéticamente. Se han registrado cambios en el conteo y activación en células sanguíneas que participan en la respuesta inmune.<sup>4</sup> La solución CM-95 tratada magnéticamente ha sido evaluada como adyuvante inmunológico de nuevo tipo para la obtención de sueros policlonales antibacterianos.<sup>5, 6</sup> A estos efectos se une la activación de la respuesta celular, donde se destaca el aumento de macrófagos y linfocitos como elementos centrales de la respuesta inmune;<sup>7</sup> con lo cual concuerda también Martínez (Martínez Manrique CE. Efectos de la solución de sales CM-95 tratada magnéticamente sobre biomodelos *in vitro* e *in vivo*. Potenciación de la respuesta inmune [tesis en opción al grado de doctor en Ciencias de la Salud]. 2004. Universidad de Oriente, Santiago de Cuba).

Teniendo en cuenta las potencialidades de la solución CM-95 tratada magnéticamente en la estimulación de la respuesta inmune, nos hemos propuesto evaluar sus efectos como adyuvantes inmunológicos para la obtención de sueros policlonales, específicamente para la proteína IgG humana.

### Métodos

#### Grupos experimentales

Fueron seleccionados cuatro grupos experimentales distribuidos de la siguiente forma: GTM como grupo de tratamiento con la solución CM-95 tratada magnéticamente y tres grupos controles: el GCP, con el adyuvante de Freund; GSTM, con la solución CM-95 sin tratamiento magnético y el GCN, con animales y sin ningún tratamiento.

#### Tratamiento magnético de la solución CM-95

La solución CM-95 formada por la sal de cloruro y sodio, a una concentración entre 0,1 y 2 % en agua destilada, se trató con campo magnético estático a una inducción magnética incluida en el intervalo entre 0,01-0,16 T.<sup>8</sup>

Se hizo la certificación del sistema magnético con el gausímetro Cryotronic INC de la Lake Shore, modelo 410 HCAT de Estados Unidos, provisto de censor modelo MSA-410, referido en el certificado N004-001 y emitido por el Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado

Obtención del suero anti IgG humano con la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico

## Esquema de inmunización

### Animales

Se escogieron ratones de la línea Balb/c hembras, de seis semanas de nacidos, con peso entre 18 y 20 g, suministrados por el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio CEMPALAB®. Los roedores se mantuvieron en locales asépticos, a una temperatura entre  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  y una humedad relativa entre 60- 61 %, en régimen de 12 horas luz y 12 horas oscuridad. Se les suministró pienso ratonita y agua acidulada *at libitum*. Fueron seleccionados de forma aleatoria 9 animales por grupo experimental.

### Inmunógeno y adyuvantes

Se utilizó la IgG humana Sigma® como antígeno, a una concentración de 50 µg, lo cual se unió con cada adyuvante seleccionado. Para el GTM se empleó la solución CM-95 tratada magnéticamente con 0,12 T como adyuvante inmunológico a evaluar (GTM). En los grupo control GCP fue usado el adyuvante de Freund completo Sigma® (AFC), para la primera dosis y el adyuvante de Freund incompleto Sigma® para el resto de las dosis, en forma de emulsión a la concentración comercial y en un volumen de 0,1ml, que fue igual al del antígeno. En el GSTM se aplicó la solución CM-95 sin tratamiento magnético. Para la unión de la solución CM-95 tratada magnéticamente y sin tratamiento magnético al antígeno IgG humana, se utilizaron volúmenes (ml) de cada solución para ajustar la concentración del antígeno a 50 µg / ml.

### Inmunizaciones

El protocolo de inmunizaciones<sup>9</sup> modificado por los autores del trabajo, incluyó la inoculación de la IgG humana en un volumen de 0,2 ml (50µg), por vía subcutánea (SC), en diferentes puntos de la región dorsal cada 7 días, durante 21 días. El booster fue aplicado por vía intravenosa a los 28 días del esquema de inoculaciones. Los animales fueron sacrificados en cámara de CO<sub>2</sub> a los 35 días, al final del esquema de inmunización.

### Obtención del suero

Se extrajo el suero en cada grupo experimental, antes de iniciar el protocolo de inmunización a los 7, 14, 21, 28 y 35 días de iniciado. Estos sangrados parciales se realizaron por el plexo retroorbital del ojo en cada animal, con el uso de capilares estériles y heparinizados. Al final de esquema de inmunización se realizaron sangramientos totales, por vía intracardíaca. En todos los casos los eritrocitos fueron eliminados por centrifugación a 1800g, durante 10 minutos en centrífuga Hitachi (IMAG). Los sueros se conservaron a 4<sup>o</sup> C hasta su uso.

### Técnica de inmunodifusión radial doble Ouchterlony

Para conocer el título de anticuerpos específicos para la IgG se aplicó la técnica de inmunodifusión radial doble (IRD).<sup>10,11</sup> Las placas de vidrio limpias y secas fueron cubiertas con agar (Sigma)® al 1 %, en solución salina 0,9 % (Laboratorio Farmacéutico Oriente Santiago de Cuba), pH 7,2 y conservadas con azida sódica (Sigma)® al 1%. Luego se efectuaron perforaciones sobre el agar solidificado a temperatura ambiente para conformar los pocillos.

Un volumen de 15µL del antígeno fue colocado en el pocillo central y el mismo volumen del antisuero puro, preparado en diluciones doble progresivas, fueron añadidos en los pocillos equidistantes, alrededor del pocillo central. Durante 72 horas las placas se mantuvieron en cámara húmeda a temperatura ambiente. El título de anticuerpos se expresó como 2-Log del inverso de la máxima dilución hasta que se observó la banda de precipitación.

Obtención del suero anti IgG humano con la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico

### Macrófagos peritoneales

Los macrófagos fueron extraídos de la cavidad peritoneal al final de esquema de inmunización.<sup>12</sup> Para obtener las células se inocularon intraperitonealmente de 3-4 ml de PBS- BSA (solución salina tamponada con fosfato pH 7.4 y suplementada con seroalbúmina bobina) (BDH) estéril. Las células después de extraídas se lavaron 3 veces con la misma solución y se centrifugaron a 500 g durante 10 minutos a 4<sup>o</sup> C, en centrifuga refrigerada (Hitachi IMAC). El sedimento obtenido se resuspendió en 50  $\mu$ L de PBS- BSA. El conteo celular se determinó en cámara de Neubauer y se utilizó cristal violeta al 1 %. La observación se efectuó en microscopio Olympus (modelo DM LB y CH-2) aumento 400 x.

### Evaluaciones macroscópicas y microscópicas

Para conocer los efectos de la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico, en el sitio de inoculación y en comparación con el adyuvante de Freund, una vez concluido el esquema de inmunización, se realizó la eutanasia y el desangrado total, para proceder finalmente a la necropsia en cada animal de experimentación.<sup>13</sup>

### Observaciones macroscópicas

Los tejidos extraídos, donde se practicaron las inoculaciones subcutáneas se observaron macroscópicamente para ver si se habían formado vesículas inflamatorias en los grupos GTM y GCP

### Observaciones microscópicas

Los tejidos subcutáneos de los animales pertenecientes a los grupos GTM y GCP fueron colectados en frascos de boca ancha de color ámbar que contenían solución buffer de formalina 10 % (MEDICUBA) las primeras 24 horas, después se transfirieron a una solución menos concentrada al 4 % para su conservación. Los tejidos fijados se procesaron en el histoquinete (modelo LEYCA-2000) y luego se incluyeron en parafina. Los cortes obtenidos se colorearon con hematoxilina eosina (HE) BDH. La observación microscópica se realizó en microscopio Olympus (DMLB- CH-2) en inmersión a diferentes aumentos.<sup>13</sup>

### Análisis estadístico

Para el procesamiento estadístico de los datos se utilizó el paquete estadístico en soporte electrónico SPSS 9,0 para Windows 1999. Se aplicó un ANOVA de clasificación simple y luego se compararon las medias en el análisis múltiple de medias DUNCAN. El nivel de significación para  $P < 0,05$ .

### Título de anticuerpos en la técnica de Ouchterlony

Los títulos de anticuerpos para la IgG humana, obtenidos durante el esquema de inmunización para el GTM (solución CM-95 tratada magnéticamente), en comparación con los grupos GCP (adyuvante de Freund) y GSTM (solución sin tratamiento magnético) se exponen en la **tabla**.

Tabla. *Dinámica del título de anticuerpos obtenidos con la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico con la IgG humana en ratones Balb/c. En las primeras inoculaciones el título de anticuerpos fue superior en el GCP con diferencias significativas con el GTM  $P < 0,05$ . La solución CM-95 tratada magnéticamente indujo títulos de anticuerpos similares al adyuvante de Freund en la respuesta secundaria.*

Grupos	Título de anticuerpos 2-log (días)						
	N=9	7	14	21	28	35	38
GTM	09031 <sup>b</sup> $\pm$ 0,14	1.5051 <sup>a</sup> $\pm$ 0,14	2.1072 <sup>a</sup> $\pm$ 0,14	2.4082 <sup>a</sup> $\pm$ 0,14	30103 <sup>a</sup> $\pm$ 0,10	30103 <sup>a</sup> $\pm$ 0,10	
GCP	1,204 <sup>a</sup> $\pm$ 0,15	1.8062 <sup>a</sup> $\pm$ 0,15	2.1072 <sup>a</sup> $\pm$ 0,16	2.4082 <sup>a</sup> $\pm$ 0,14	30103 <sup>a</sup> $\pm$ 0,13	30103 <sup>a</sup> $\pm$ 0,13	
GSTM	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

$P < 0,05$  diferencias significativas letras diferentes.  $P > 0,05$  letras iguales

GTM (Solución CM-95 TM)

GCP (Adyuvante de Freund)

*GSTM (Solución CM-95 sin tratamiento magnético)*

Como se puede apreciar, 7 días del esquema de inmunización se obtuvieron títulos de anticuerpos superiores para el GCP, donde se aplicó el adyuvante de Freund, en relación con GTM (solución CM-95 TM), con diferencias estadísticamente significativas  $P < 0.05$ .

A los 14 días de las inmunizaciones ambos grupos aumentaron sus títulos de anticuerpos. El GCP (adyuvante de Freund) mantuvo valores superiores, pero sin diferencias de significación estadística  $P > 0.05$ .

Los resultados obtenidos a los 21 y 28 días mantuvieron la tendencia al aumento en el título de anticuerpos, pero en estos tiempos, los valores también fueron similares para el GTM en relación con el GCP. En los dos tiempos finales del esquema de inmunización (35 y 38 días) entre los grupos GTM y GCP no se registraron diferencias estadísticas ( $P > 0.05$ ), se mantuvieron los mismos valores en el título de anticuerpos para estos tiempos y grupos.

En el GSTM, donde se utilizó la solución CM-95 sin tratamiento magnético, no se registraron títulos de anticuerpos específicos para la IgG humana, para los tiempos evaluados durante el esquema de inmunización. Sin embargo, en los grupos GTM y GCP hubo una respuesta adecuada en el título de anticuerpos para el antígeno proteico, durante el desarrollo del esquema de inmunización (**tabla**), pero esta fue diferente para cada uno de estos grupos, lo que puede ser debido al tipo de adyuvante utilizado.

En las primeras inoculaciones correspondientes a la respuesta primaria, los resultados en los títulos de anticuerpos fueron superiores para el GCP, donde se utilizó el adyuvante de Freund completo e incompleto, mientras que este parámetro, en las inoculaciones posteriores correspondientes a la respuesta secundaria para el GTM, con el uso de la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico fue similar al adyuvante de Freund.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos en trabajos anteriores, donde se evaluó la acción de la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico con antígenos bacterianos, en esquemas de inmunización desarrollados en ratones Balb/c y conejos Nueva Zelanda. En diferentes tiempos del desarrollo del esquema de inmunización durante la respuesta secundaria se obtuvieron títulos de anticuerpos superiores, cuando se utilizó la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico en comparación con los adyuvantes convencionales.<sup>5, 6</sup>

La solución CM-95 TM, por ser soluble, se ha podido evaluar como adyuvante inmunológico con antígenos bacterianos por las vías de inmunización intraperitoneal; subcutánea e intravenosa en ratones Balb/c y conejos blancos Nueva Zelanda, con buenos resultados. En este trabajo se ha evaluado la solución adyuvante con un antígeno proteico soluble. Al utilizar la vía subcutánea en ratones Balb/c, contradictoriamente, el adyuvante de Freund no puede emplearse por todas las vías de inmunización, y en específico por la intravenosa, ya que al insolubilizar el antígeno se forma una emulsión que obstruye las venas.<sup>10, 13-15</sup>

En sentido general, la no aparición de títulos de anticuerpos para el GSTM durante el esquema de inmunización, cuando fue utilizada la solución CM-95 sin tratamiento magnético, asevera la importancia del tratamiento magnético aplicado a la solución CM-95 para obtener efectos de inmunoestimulación. En este caso dicha solución logró activar elementos importantes de la respuesta inmune, que potencian la síntesis de anticuerpos específicos para la proteína IgG humana. Se ha demostrado que la obtención de anticuerpos para antígenos proteicos dependen no solo de la participación de linfocitos B, sino también de la cooperación de subpoblaciones de linfocitos T, como los Th CD4<sup>+</sup> reguladores, propios de la respuesta inmune celular.<sup>11</sup>

En estudios anteriores Martínez et al.<sup>6</sup> informaron la acción de la Solución CM-95 tratada magnéticamente en la estimulación de la respuesta inmune celular y en particular de los linfocitos T CD4<sup>+</sup>, lo que puede explicar su acción en la síntesis de anticuerpos específicos para un antígeno de naturaleza proteica (IgG humana).

En este trabajo se utilizó un esquema con inmunizaciones a intervalos de 7 días y una concentración del antígeno de 50 µg. Estas condiciones de inmunización fueron escogidas, teniendo en cuenta la utilización de ratones como biomodelos experimentales y una proteína como antígeno, donde la dosis de inmunización puede oscilar entre 50 y 1000 µg o entre 5 y 50 µg,<sup>10</sup> aunque algunos investigadores sugieren el uso de otras vías de inmunización y diferentes dosis para antígenos solubles y proteicos;

sobretudo cuando se utilizan cabras y caballos se sugiere la vía intramuscular y la dosis del antígeno en mg.<sup>16-18</sup>

Estos resultados demuestran la importancia en el uso de adyuvantes inmunológicos, especialmente cuando se utilizan antígenos solubles, los que son poco inmunogénicos y necesitan de estas sustancias para hacer eficaces los procesos de inmunización en la obtención de sueros policlonales o monoclonales.

### Macrófagos peritoneales

En la **figura 1** se muestran los resultados en el número de los macrófagos peritoneales al final del esquema de inmunización con el antígeno proteico IgG humano, inoculado por vía SC para los grupos GTM (solución CM-95 TM), GCP (adyuvante de Freund), GSTM (solución CM-95 sin tratamiento magnético) y GCN (animales sin inocular).

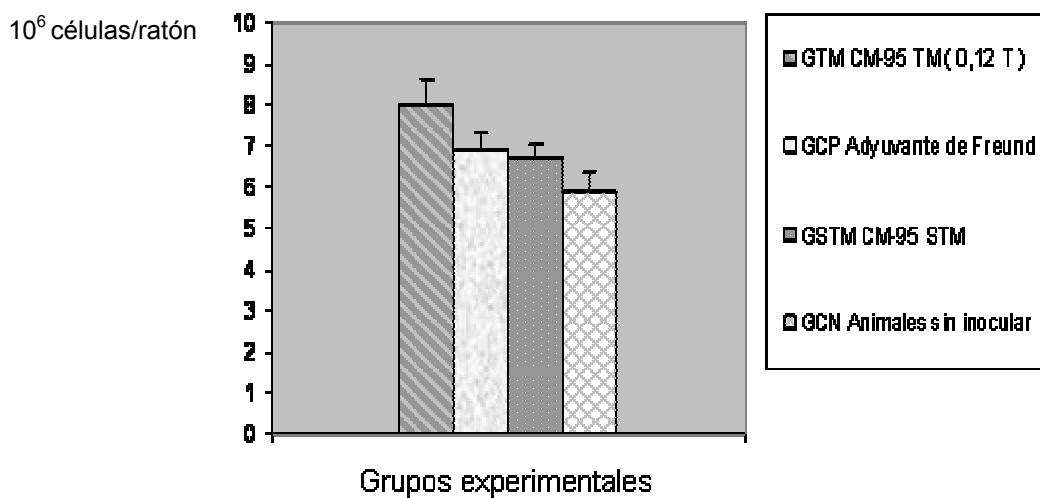


Figura 1. *Conteo de macrófagos peritoneales en ratones Balb/c inoculados con la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico, junto a la IgG humana como antígeno. El número de macrófagos peritoneales al final del esquema de inmunización fue superior en el GTM en relación con el GCP, GSTM y GCN, con diferencias estadísticamente significativas para P<0,05.*

La **figura 1** muestra, en el grupo GTM, valores superiores en el conteo de macrófagos peritoneales y al resto de los grupos, con diferencias significativas con todos ellos para P<0.05. Las diferencias significativas entre los controles se registraron para el GCP y GSTM en relación con GCN. P< 0,05.

Aún cuando la inoculación del antígeno junto al adyuvante se realizó por vía subcutánea, fue alta la estimulación de los macrófagos peritoneales, los cuales debieron diferenciarse de monocitos sanguíneos a macrófagos o se estimularon a los macrófagos residentes en la serosa de la cavidad peritoneal, los que se movilizaron al peritoneo por la acción de la solución CM-95 tratada magnéticamente.<sup>11</sup> Se puede defender la hipótesis que a través de la vía linfática o sanguínea pudo llegar el estímulo de la solución CM-95 TM hasta el peritoneo cuando fue inoculada por vía subcutánea y realizar efectos quimiotácticos hacia estas células.

Diferentes autores han encontrado que los macrófagos funcionan como CPA fundamentalmente en los procesos de activación de linfocitos para respuestas secundarias proteicas<sup>12</sup> como el utilizado en esta investigación.

### Toxicidad local

En la **figura 2** se exponen los resultados del análisis microscópico en el estudio histopatológico realizado al tejido en el sitio de inoculación del inmunógeno proteico IgG humano, junto con la solución CM-95 tratada magnéticamente (GTM) A y con el adyuvante de Freund (GCP) B.

En los animales inoculados con la solución CM-95 TM, junto al antígeno proteico IgG humana se observó que no existen hallazgos tisulares de toxicidad en el sitio de administración, a pesar de la presencia de macrófagos y linfocitos (**figura 2A**). En el grupo GCP, donde se utilizó el adyuvante de Freund aparecieron vesículas o quistes. En la observación histológica hubo reacción granulomatosa, dados por la formación de granulomas macrófágicos que induce este adyuvante (**figura 2 B**).

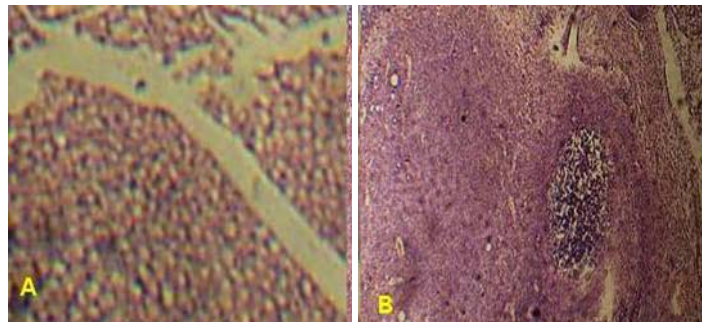


Figura 2. *Tejido subcutáneo en el sitio de inoculación de la IgG humana por vía subcutánea en un esquema de inmunización en ratones Balb/c. A) GTM con la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico. Se observa el tejido adiposo con infiltración de linfocitos, polimorfonucleares y macrófagos epiteliales. B) GCP con el adyuvante de Freund. Se observa el tejido adiposo con hemorragia de histiocitos, reacción inflamatoria con infiltración de linfocitos polimorfonucleares y formación de granuloma macrófágico.*

En este caso se pudo demostrar que históricamente existen manifestaciones diferentes. La solución CM-95 tratada magnéticamente movilizó células importantes para la respuesta inmune sin signos de toxicidad local; sin embargo, el efecto del adyuvante de Freund fue la movilización de estas células con la inducción de grave respuesta inflamatoria.

Según algunos autores el adyuvante de Freund tiene acción de depósito, al insolubilizar el antígeno, lo cual propicia la acumulación de macrófagos junto con otras células, que forman los granulomas macrófágicos y es lo que constituye el signo de toxicidad.

La solución CM-95 es soluble, no origina la formación de granulomas, lo cual sugiere otro mecanismo de acción en la estimulación inmunológica. Su comportamiento como inmunopotenciador pudiera explicarse si asumimos la hipótesis que esta solución tratada magnéticamente interacciona con la membrana de las células que participan en la respuesta inmune, donde se encuentran receptores y otras moléculas cargadas, con funciones importantes para la respuesta inmune humoral y celular, las que recibieron la nueva señal de la sustancia tratada magnéticamente.

Estos resultados sugieren la posibilidad de utilizar la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico, para la obtención de reactivos biológicos específicos para proteínas del suero sanguíneo humano con eficacia y seguridad en diferentes biomodelos experimentales.

### Referencias bibliográficas

1. Vanselón BA. La aplicación de adyuvantes a la medicina veterinaria. *Veterinar Bulletin* 1989; 37 (11): 881-93.
2. Widera G, Austin M, Rabussay D, Goldbeck C, Barnett SW, Chen M et al. Increased DNA Vaccine delivering and immunogenicity by electroporation in vivo. *J Immunol* 2000; 164(9):4635-40.
3. Pierre J, Scheerlinck S. Genetic adjuvant for DNA Vaccines. *Vaccines* 2001; 19: 2647-656.
4. Klassem VJ. Magnetización de sistemas acuosos. Moscú: Editorial Química, 1982; cap II: 22 - 8.

Obtención del suero anti IgG humano con la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico

5. Martínez C, Pérez I, Infante JF, Sierra G, Delgado L, Cobas G et al. Evaluación de la sustancia CM-95 tratada magnéticamente como inmunopotenciador con antígenos particulados en ratones de la línea Balb/c por vía intraperitoneal. *Vaccimonitor* 1999; 8 (11): 2-6.
6. Martínez CE, Cobas G, Lebeque Y, Fontaine R, Perez I, Morris H et al. Evaluación de la sustancia CM-95 tratada magnéticamente como inmunopotenciador con antígenos de *Pseudomonas aeruginosa*. *Bioteconología Aplicada* 2003; 20: 22-5.
7. Martínez CE, Pérez I, Fontaine R, Morris H. Efectos de la solución CM-95 tratada magnéticamente sobre células mononucleares en ratones Balb/c. *Biotechnol Aplic* 2004; 21: 224-8.
8. Martínez CE, Rodríguez B, Cobas G, Hurtado A, Pérez I, Correa M. Solución adyuvante. Patente Cubana. Resolución No.1114/ 1999. certificado No.22583.1999.
9. Gavilondo JV. Anticuerpos monoclonales. Teoría y práctica. La Habana: Ediciones ELFOS, 1995: 13-20.
10. Pico MC, Giraldo IG, Otero A. Inmunología experimental. La Habana: Editorial Félix Varela, 1997.
11. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Inmunología celular y molecular. 3 ed. Madrid: Mc Graw-Hill Interamericana, 2000: 125-40.
12. Kiho T, Shoes Y, Nargai K, Shigeo M. Polysaccharides in Fungi XXX. Antitumour and Immunomodulation activities of two polysaccharides from the fruiting bodies of *Armillariella tabescens*. *Chem Pharm Bull* 1992; 40 (21):10- 4.
13. Gupta RK, Siber G, Adjuvant for Humans Vaccines. Currents Status. Problems and future prospects. *Vaccine* 1995: 13 (14):1263-65.
14. Stewart Tull D. Freund type mineral oil adjuvants emulsions in Stewart Tull Des editor. *The Theory and Practical of Adjuvants Application* 1995; 1-19.
15. Aucouturier J, Dupuis L, Ganne V. Adjuvant designed for veterinarian human vaccines. *Vaccine* 2001; 19: 2666- 72.
16. Cattaneo V, Mucci Juan S, Romina PR, Mariquena K, Ribulatti V. Inmunología molecular. Guía de trabajos prácticos [La Habana] 2007: 7-10.
17. Linares MJ, Villaescusa B, Guerrero H, González JM, González SR, Hernández AA. Preparación de un conjugado anti IgG de ratón preoxidado en cabra. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2001; 17(2): 132-7.
18. Maldonado TC, Muñoz ET, Saldívar SE, Moreno GA. Descripción de algunos aspectos básicos de la inmunización [Artículo en línea] *Rev Electr Vet* 2007;8(5):1695-7504  
<<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050507.html>> [Consulta 25 octubre 2007].

Dirección: Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado, Avenida de Las Américas S/ N CP 60400 Santiago de Cuba.

Dirección electrónica: [clarita@cnea.uo.edu.cu](mailto:clarita@cnea.uo.edu.cu)

<sup>1</sup> Licenciada en Ciencias Biológicas. Doctora en Ciencias. Profesora Titular  
Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado. Universidad de Oriente

<sup>2</sup> Licenciada en Ciencias Biológicas. Máster en Biotecnología  
Hospital Oncológico "Conrado Benítez" de Santiago de Cuba

<sup>3</sup> Especialista de II Grado en Bioquímica e Inmunología. Doctor en Ciencias. Profesor Titular  
Centro Nacional para la Producción de Sueros y Vacunas. Instituto Finlay. La Habana

## CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

Martínez Manrique C, Tamayo Ortega V, Sierra González G. Obtención del suero anti IgG humano con la solución CM-95 tratada magnéticamente como adyuvante inmunológico. [artículo en línea]. *MEDISAN* 2007;11(4). <[http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol11\\_4\\_07/san09407.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol11_4_07/san09407.htm)> [consulta: fecha de acceso].