

## Obtención de un anticuerpo monoclonal murino que reconoce al polisacárido capsular Vi de *Salmonella* Typhi

Nevis Amin-Blanco,\* Fátima Reyes-López, Frank Camacho-Casanova, Oscar Otero-Alfaro, Maribel Cuello-Pérez, Darcy Núñez-Martínez, Sonsire Fernández-Castillo, Luis Guillermo García-Imía

Instituto Finlay, Centro de Investigación y Producción de Vacunas. Ave. 27, No 19805, La Lisa, AP 16017 Cod. 11600 La Habana Cuba

email: namin@finlay.edu.cu

---

La tecnología clásica del hibridoma permitió el desarrollo de anticuerpos monoclonales (AcM) contra una inmensa variedad de antígenos, los cuales tienen diversas aplicaciones en el campo de la investigación básica, diagnóstico, inmunoterapia y en los procesos industriales de vacunas. En este trabajo se generaron hibridomas productores de AcM específicos contra el polisacárido capsular Vi de *Salmonella* Typhi, para lo cual se realizó la inmunización intraperitoneal de ratones BALB/c con 10 µg de polisacárido capsular Vi conjugado a Toxoide Diftérico y la subsiguiente fusión entre los linfocitos aislados del bazo y células de mieloma SP2/O. Se seleccionó y caracterizó un AcM que se denominó 4G3E11. El isotipo del AcM resultó IgG1. Se demostró que AcM 4G3E11 reconoce diferentes valores de concentración del polisacárido en muestras de vacunas vax-TyVi®, mediante un ELISA tipo sándwich. El AcM obtenido como parte de este estudio permitirá la identificación y cuantificación del polisacárido Vi en vacunas anti-tifoídicas.

**Palabras claves:** polisacárido Vi, *Salmonella* Typhi, hibridoma, anticuerpos monoclonales, fiebre tifoidea.

---

### Introducción

La fiebre tifoidea (FT) es una enfermedad bacteriana sistémica cuyo agente infeccioso es *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. Typhi*), la cual tiene como su único hospedero a los humanos. Su distribución es mundial con una mayor prevalencia en países en vías de desarrollo, principalmente en Asia, África y América Latina, donde constituye un reto a las autoridades en salud pública (1).

En Cuba existe una tendencia descendente de la morbilidad por FT, con una tasa de incidencia de 0,1 por 100.000 habitantes en el año 2014 y no se declaran casos desde ese año (2).

Este logro se alcanzó gracias a la implementación de medidas encaminadas a la mejora de las condiciones del ambiente, un control higiénico de los alimentos, uso de agua potable, educación de la población, así como la inclusión en el programa nacional de vacunación de una vacuna eficaz y segura (3).

La vacuna antitifoídica cubana vax-TyVi®, es una vacuna constituida por el polisacárido capsular Vi purificado a partir de *S. Typhi*, que tiene entre sus numerosas ventajas: baja reactogenicidad, elevada inmunogenicidad y eficacia consistente, comparables

con otras vacunas existentes en el mercado (3). Esta vacuna se suministra a la población según el esquema vigente en el país (4).

Las pruebas para evaluar los requisitos mínimos de calidad del lote final de una vacuna pueden clasificarse en: pruebas microbiológicas, biológicas y fisicoquímicas. Dentro de las pruebas fisicoquímicas se incluyen las dirigidas a verificar la identidad y el contenido antigénico de los diferentes componentes de una vacuna (5). Las pruebas inmunoquímicas, como la inmunotransferencia, la aglutinación en látex, la inmunoprecipitación y los ensayos inmunoenzimáticos en fase sólida (ELISA), son útiles para evaluar los antígenos incorporados en las vacunas.

Los anticuerpos monoclonales (AcM) y antiseros específicos a un determinado antígeno, se utilizan en diferentes técnicas inmunoquímicas con el objetivo de detectarlo. Los antiseros policlonales son fáciles de producir; sin embargo, durante su obtención tienen como principales desventajas las diferentes afinidades y afectaciones en la reproducibilidad.

Los AcM tienen propiedades que resuelven estas desventajas: son específicos para un epítipo determinado e idénticos entre sí, constituyen una

---

\* Dra en Ciencias Médicas, Especialista de Segundo Grado de Microbiología, Investigador Auxiliar.

población homogénea y además, constituyen una fuente inagotable (6).

Actualmente, se emplea en el Instituto Finlay, (La Habana, Cuba), un suero hiperinmune que se obtiene en conejos, contra el polisacárido Vi de *S. Typhi* en la determinación de la identidad (7), así como de la concentración del polisacárido en la vacuna antitifoídica vax-TyVi® (8).

El presente trabajo tuvo como objetivo obtener un AcM específico al polisacárido capsular Vi, el cual pudiera potencialmente desplazar al suero policlonal en los ensayos actuales, dirigidos a la identificación y cuantificación de este antígeno.

## **Materiales y Métodos**

### **Antígenos y muestras**

- Polisacárido capsular de *S. Typhi* (Poli Vi) conjugado a Toxoide Diftérico (Poli Vi-TD). El conjugado fue suministrado por el Laboratorio de Glicoconjugación del Centro de Química Biomolecular (CQB) de La Habana, Cuba.
- Como material de recubrimiento de la fase sólida del ELISA se utilizó el Lote 6014 de la vacuna vax-TyVi®.
- Como muestras del ensayo ELISA y para la preparación de una curva de calibración se utilizó el Lote 9006 de la vacuna vax-TyVi®.

Los lotes de vacuna vax-TyVi® y TD fueron producidos por el Instituto Finlay, La Habana, Cuba, bajo condiciones de Buenas Prácticas de Fabricación.

### **Obtención de hibridomas productores de anticuerpos monoclonales**

#### *Animales*

Se utilizaron ratones BALB/c hembras con un peso corporal entre 18 y 20 g, suministrados por el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) de La Habana, Cuba.

#### *Esquema de inmunización*

A los ratones se les realizó tres inmunizaciones por vía intraperitoneal con intervalos de 20 días. Las dosis inoculadas por ratón fueron de 10 µg de Poli Vi-TD en solución amortiguadora de fosfatos (SSTF). Tres días antes de la eutanasia se inocularon con una dosis de refuerzo de 10 µg de Poli Vi-TD en SSTF por vía intravenosa.

### *ELISA de tipo indirecto para la titulación de anticuerpos IgG anti-polisacárido Vi*

Para evaluar los títulos de anticuerpos anti-polisacárido Vi en el suero de los animales inmunizados, se realizó un ELISA indirecto, según lo descrito por Ramírez y col 2006 (9) con algunas modificaciones. En el paso de las muestras se añadieron a los pozos 100 µL de los sueros de los animales inmunizados en las diluciones entre 1:500 y 1:10.000. En el paso de reconocimiento de anticuerpo anti-Vi unido al antígeno de la placa, se empleó un conjugado anti-IgG de ratón-peroxidasa de rábano picante (Sigma, USA). Como cromógeno se empleó ortofenilendiamina (OPD). Se incubaron las placas por espacio de 20 a 30 min en la oscuridad de 20-25°C.

La absorbancia se midió a una longitud de onda de 492 nm (DO) mediante un lector de placas (Multiskan Thermo Electron Corporation, USA). Se utilizó como control negativo una mezcla de los sueros que se colectaron antes de la primera inmunización (preinmunes).

El criterio de selección de los ratones que se emplearon para la fusión fue: valores de absorbancia superiores a cinco veces el valor de absorbancia producidos por el suero preinmune, presente en la dilución de 1:10.000.

#### *Fusión celular*

Las células esplénicas de los ratones y las células de la línea de mieloma de ratón SP2/O en crecimiento exponencial, se utilizaron para realizar las fusiones celulares según el método de Kohler y Milstein (10).

Los híbridos crecidos se utilizaron para evaluar los niveles de anticuerpos en el sobrenadante de cultivo sin diluir mediante el ELISA descrito con anterioridad. Se empleó como control negativo de este ensayo sobrenadantes de hibridomas secretores de AcM contra antígenos no relacionados.

Se determinaron las clases (IgM, IgA e IgG) y las subclases de IgG (IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3) de los anticuerpos presentes en el sobrenadante de los híbridos que resultaron positivos.

La identificación se realizó mediante el uso de un estuche de isotipificación de ratón (Pierce, USA), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

Los hibridomas positivos que se seleccionaron, fueron clonados por el método de dilución limitante (11) y congelados en nitrógeno líquido en presencia de 10% de dimetilsulfóxido y suero fetal bovino.

*Producción in vivo de anticuerpos monoclonales*

Las células del hibridoma que se seleccionó luego del desprendimiento, se lavaron 2 veces en SSTF y se centrifugaron a 180 g durante 10 min a 4°C.

La suspensión celular se inoculó en concentración de  $1 \times 10^6$  células en 0,5 mL de medio RPMI-1640, por vía intraperitoneal, a 30 ratones BALB/c. El peritoneo de los ratones se estimuló siete días antes de la administración con Pristane (SIGMA, USA).

A partir de los 10 días de la inoculación se extrajo el líquido ascítico por punción del peritoneo y se clarificó por centrifugación a 1125 g durante 30 min a 4°C (6). El fluido ascítico se almacenó a -20°C hasta su uso.

La titulación del fluido ascítico se determinó mediante ELISA tipo indirecto para la detección de anticuerpos anti-polisacárido Vi. Se evaluaron las diluciones en base de 2 de las muestras. Como control negativo se utilizó el suero preinmune y como control positivo las muestras de los ratones inmunizados con el polisacárido Vi. El título se definió como la máxima dilución de la ascitis donde se obtuvo el doble del valor de absorbancia del suero preinmune.

*Purificación y caracterización de anticuerpos monoclonales*

El AcM presente en el fluido ascítico se purificó por cromatografía de afinidad, empleando la columna HiTrap Protein G High Performance (GE Healthcare, Germany) acorde a las instrucciones del fabricante (6).

En la determinación de la concentración de proteínas totales se aplicó el método del ácido bicinónico, utilizando el estuche comercial BCA TM Protein Assay Kit (Pierce, USA).

Los isotipos de los anticuerpos monoclonales se determinaron con el uso del estuche de isotipificación de ratón (Pierce, USA).

*Conjugación del AcM a peroxidasa de rábano picante para el desarrollo de un ELISA tipo sándwich*

La conjugación de las inmunoglobulinas se realizó según Wilson (12). Fueron disueltos 8 mg del AcM purificado y acoplado a 4 mg de peroxidasa de rábano picante (tipo VI) en 1 mL de agua destilada, se purificó por cromatografía de gel de filtración.

Luego se añadió albumina sérica bovina al 1%, tiomersal 0,05% y glicerol 50%. Se conservó a -20°C.

**ELISA sándwich para la detección de polisacárido Vi en muestras de vacuna vax-TyVi®**

Placas de poliestireno de 96 pocillos (Maxisorp, Nunc, Reino Unido), se recubrieron con una solución de anticuerpo monoclonal IgG anti-polisacárido Vi 4G3E11 en tampón carbonato-bicarbonato, pH=9,6. Se añadieron cada una de las preparaciones de las diluciones correspondientes a las concentraciones: 5, 10, 15, 20 y 25  $\mu\text{g/mL}$ , a razón de 100  $\mu\text{L}$  por pocillo. Las placas se incubaron durante 16 a 20 h, a 4°C. Al día siguiente, se lavaron con SSTF-Tween 20 al 0,05% (tampón de lavado) y se bloquearon con leche descremada al 3% en SSTF (200  $\mu\text{L}$  por pocillo) y se incubaron las placas 1 h a 37°C, en cámara húmeda. A continuación, las microplacas se lavaron con tampón de lavado 4 veces y se añadieron diluciones seriadas de las muestras de la vacuna con lote 9006 en SSTF-leche descremada al 3%. Después de 1 h en cámara húmeda a 37°C, las placas se lavaron y se incubaron con el AcM anti-polisacárido conjugado a peroxidasa, a una dilución 1:8000 en tampón SSTF-leche descremada al 1 %- Tween 20 al 0,05% y se añadió a razón de 100  $\mu\text{L}$ /pocillo. Transcurrido el tiempo de incubación, las microplacas se lavaron y se incubaron con solución de sustrato OPD durante 30 min, a temperatura ambiente, en la oscuridad. La reacción se detuvo con ácido sulfúrico 0,1 M y se leyó la absorbancia a 492 nm en un lector de placas ELISA.

Se realizaron cuatro ensayos independientes y los resultados se expresaron como los valores medios de absorbancia. Para establecer el criterio de positividad, se tuvo en cuenta como positivas aquellas muestras que mostraron un valor de absorbancia dos veces superior al valor de absorbancia producida por el control negativo.

Se realizó la preparación de una curva de calibración a partir del lote 9006 de la vacuna vax-TyVi®. Se realizaron diluciones dobles seriadas en un rango desde 0,39-10 ng/mL. Las diluciones se aplicaron por triplicado en las microplacas. Se graficaron las medias de los valores de absorbancia contra la concentración de cada punto. Se seleccionó el rango lineal tomando como criterio que el valor del coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de los puntos de la curva seleccionada fuese igual o superior a 0,98.

**Resultados y Discusión**

Cuando los métodos ELISA emplean anticuerpos monoclonales, son altamente sensibles, específicos y pueden discriminar entre diferentes polisacáridos (6).

Además, brindan resultados consistentes para la validación y estandarización (13). Por lo tanto, es necesario disponer de AcMs específicos del polisacárido Vi que permitan desarrollar nuevos ensayos, mejorar los existentes y que se utilicen para determinar el contenido del polisacárido Vi en los preparados vacunales. En este trabajo se describe la obtención y caracterización parcial del anticuerpo monoclonal 4G3E11 que se generó contra el polisacárido Vi de *S. Typhi*, para lo cual se inmunizaron ratones BALB/c con Poli Vi-TD.

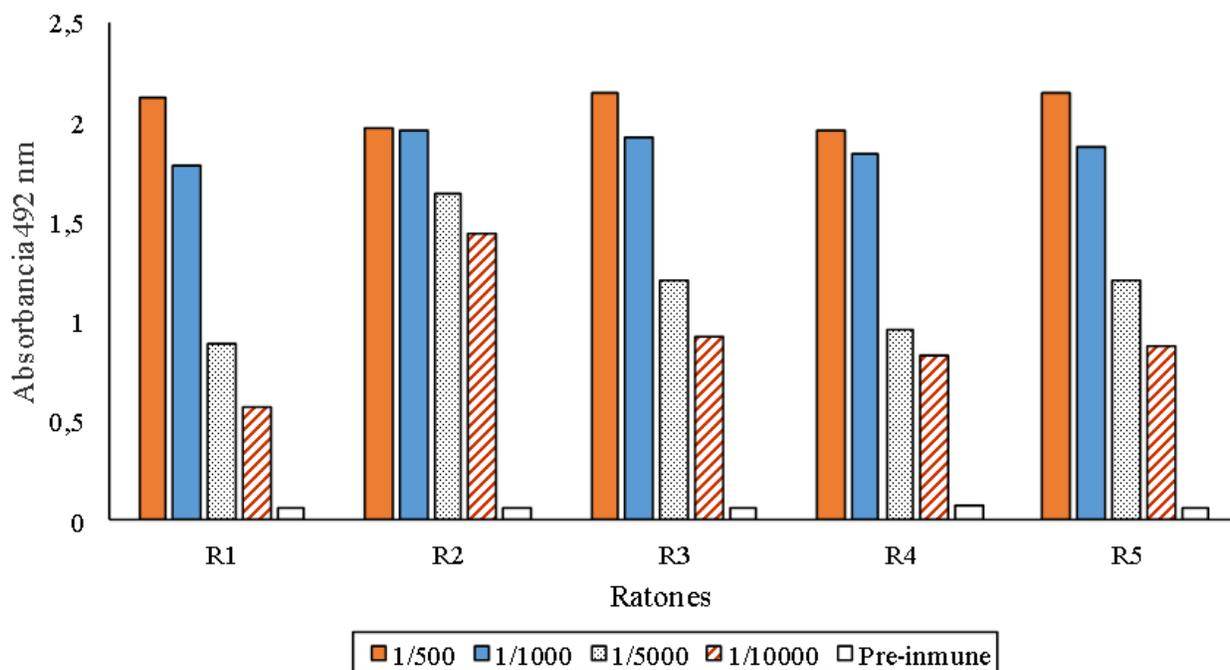
En la Figura 1 se observa que todos los ratones inmunizados alcanzaron títulos de anticuerpos en el suero, con valores de absorbancia entre 0,58 y 1,43. Además, los títulos de IgG fueron superiores a los obtenidos en el tiempo 0 (preinmune). Se seleccionaron los ratones 2 y 3, por presentar los valores más altos de DO a 492 nm en la dilución 1:10.000, como fuente para la fusión con las células de mieloma.

El diseño experimental del esquema de inmunización tuvo en cuenta la ruta, dosis y esquema propuestos para la generación de AcMs de alta afinidad. La conjugación es un procedimiento que permite que el polisacárido Vi, antígeno timo-independiente, se convierta en timo-dependiente. La respuesta que se obtiene frente a una

inmunización con este tipo de antígeno se caracteriza por la inducción de anticuerpos del tipo IgG, la aparición de una respuesta secundaria y la permanencia de esta respuesta en el tiempo (14).

Como resultado de la fusión se obtuvieron 338 pocillos con crecimiento de las células fusionadas, las que sobrevivieron a la selección con el medio mezcla de hipoxantina, aminopterina, y timidina (medio HAT), de un total de 960 pocillos sembrados, para una eficiencia de fusión de un 35,2%. Los valores de eficiencia de fusión entre un 35 y 60% se consideran satisfactorios (15). De estos posibles híbridos con buen crecimiento celular se obtuvieron un total de 33 con anticuerpos específicos para el polisacárido Vi en el sobrenadante, con DO 492nm  $\geq$  1,0. Se debe destacar que la eficiencia de fusión y la aparición de hibridomas específicos se deben fundamentalmente al esquema de inmunización aplicado a los ratones y la calidad y concentración del antígeno que se empleó.

De los 33 hibridomas expandidos a placas de 24 pozos, 13 mantuvieron la capacidad de secretar anticuerpos contra Polisacárido Vi cuando se sometieron a una segunda evaluación a partir de diversos pasos de expansión. En la Tabla 1 se muestran los resultados



**Fig. 1.** Respuesta de anticuerpos IgG anti-polisacárido Vi en ratones inmunizados con polisacárido Vi-TD. Cinco ratones BALB/c se inmunizaron con tres dosis por vía intraperitoneal de polisacárido Vi-TD. Los datos muestran los valores de IgG evaluados por un ELISA indirecto y expresados en Densidad Óptica a 492nm.

de la determinación de la clase y la subclase de los anticuerpos que producen los tres híbridos que presentan los mayores valores de absorbancia: 4G3, 2C5 y 2C8.

**Tabla 1.** Clase y subclase de los anticuerpos producidos por los hibridomas seleccionados.

AcM	Clase/Subclase
4G3	IgG/IgG1
2C5	IgM
2C8	IgM

De los tres hibridomas positivos que se evaluaron, se eligió el hibridoma 4G3 y se clonó por dilución limitante. La selección del 4G3 se realizó teniendo en cuenta que es el único secretor de anticuerpos tipo IgG y específico. Son excelentes para la purificación y posterior aplicación de los mismos en un ELISA. La utilidad de los restantes hibridomas, secretores de anticuerpos de la clase IgM, debe evaluarse en otros estudios (16).

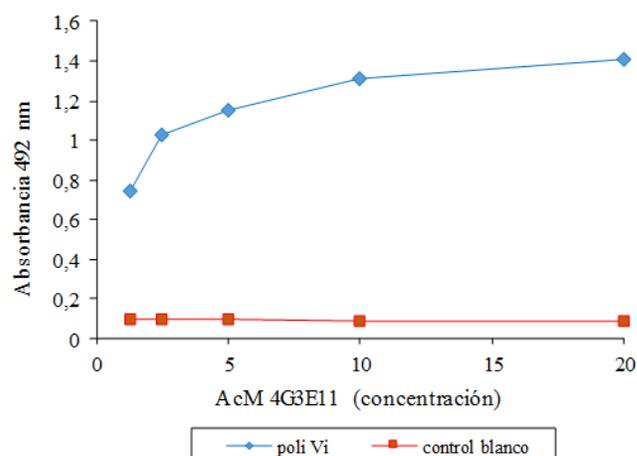
Se seleccionaron un total de 11 pocillos, que al visualizarse contenían una única colonia de células. El método de dilución limitante permite que cada pocillo contenga al menos una colonia del híbrido de interés y de esta manera asegura la monoclonalidad (11). Los clones obtenidos secretaron anticuerpos específicos y ninguno presentaron reactividad cruzada con el TD, proteína portadora en el esquema de inmunización.

Se seleccionó el clon 4G3E11 para la producción de los AcM en fluido ascítico y posterior purificación, según su reactividad en el ELISA contra el polisacárido Vi y características de crecimiento en cultivo. Los títulos de anticuerpos de la ascitis fueron elevados, en el orden de 1:16.000. La concentración de proteínas totales del AcM 4G3E11 purificado a partir del líquido ascítico fue de 3,2 mg/mL.

Para caracterizar, de manera parcial, el AcM obtenido, se investigó si es capaz de reconocer el polisacárido Vi en muestras de vacunas vax-TyVi® mediante un ELISA sándwich. Como paso crucial del ELISA, se estableció la concentración óptima de recubrimiento del anticuerpo monoclonal 4G3E11 (Fig. 2). La meseta de mayor señal con la muestra de polisacárido Vi y la meseta de menor señal con el blanco control se observa a partir de 10 µg/mL.

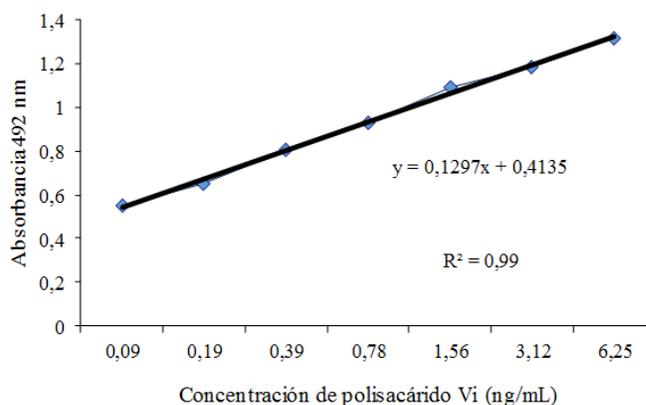
La concentración de recubrimiento para el anticuerpo monoclonal se estableció en 10 µg/mL, (Fig. 2) lo

cual coincide con Gavilondo (11). Por otra parte el AcM se marcó con éxito con la enzima peroxidasa y demostró su empleo como reactivo de detección en el ELISA, a la dilución de trabajo de 1:8.000 y frente a una concentración fija del polisacárido Vi.



**Fig. 2.** Determinación de la concentración óptima de recubrimiento del AcM 4G3E11 frente a una dilución de trabajo del polisacárido Vi (6,25 ng/mL) (Lote 9006 de la vacuna vax-TyVi®)

El empleo de los AcM en este tipo de ELISA, proporcionan al método una elevada sensibilidad, especificidad y que los resultados sean aceptables en términos de exactitud y variabilidad (13). Teniendo en cuenta los resultados del ELISA con el 4G3E11, se realizaron tres réplicas de una curva con muestras de



**Fig. 3.** Rango lineal de la curva de calibración de polisacárido Vi (Lote 9006 de la vacuna vax-TyVi®)

la vacuna vax-TyVi<sup>®</sup>, lote 9006 (Fig. 3) y así probar su posible aplicación como estándar en este tipo de ensayo.

Todas las curvas de polisacáridos (calibración) rindieron valores de R<sup>2</sup> superiores a 0,98 en el rango entre 10 y 0,39 ng/mL, con factor de dilución 2. Además los valores de absorbancia para los puntos de mayor concentración de cada una de las curvas se ubicaron entre 0,9 y 1,7. Los blancos del ensayo tuvieron un valor promedio de 0,083, lo cual se corresponde con lo esperado para los métodos colorimétricos.

Como resultado de este ensayo, el AcM 4G3E11 pudiera ser incluido como parte de los ensayos diseñados para la identificación y la caracterización del polisacárido Vi presente en diferentes formulaciones vacunales y así remplazar los antiseros específicos que se utilizan actualmente. Además, pudiera aplicarse en conjunto con los híbridos 2C5 y 2C8 para el diagnóstico de la FT, en sistemas inmunoenzimáticos o de aglutinación.

La caracterización completa de estos AcM resulta necesaria, por lo tanto será de gran utilidad profundizar en su especificidad frente a otros polisacáridos de cepas de *Salmonella* Paratyphi y *Citrobacter freundii*, así como la determinación de su constante de afinidad.

## Referencias

1. Verma R, Bairwa M, Chawla S, Prinja S, Rajput M. New generation typhoid vaccines. An effective preventive strategy to control typhoid fever in developing countries. *Human Vaccines* 2011;7(8):883-5.
2. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Anuario Estadístico de Salud 2013. La Habana: MINSAP; 2013. Disponible en: [www.http://files.sld.cu/dne/files/2014/05/anuario-2013-esp-e.pdf](http://files.sld.cu/dne/files/2014/05/anuario-2013-esp-e.pdf)
3. Riveron L, Daniel Cardoso. Vax-TyVi: Vacuna cubana de polisacárido Vi de *Salmonella typhi*. *Biotecnol Aplicada* 2003;20(4):245-7.
4. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Esquema Oficial Vacunación Infantil. Cuba 2014. La Habana: MINSAP; 2014. Disponible en: <http://files.sld.cu/puericultura/files/2013/01/esquema-de-vacunacion-2011.pdf>
5. Fernández Y. Estandarización del ELISA para la cuantificación de polisacáridos A, C, Y y W en vacunas antimeningocócicas multivalentes. Tesis para optar por el Grado de Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. La Habana: Universidad de La Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos; 2014.
6. Reyes F, Amin N, Otero O, Aguilar A, Cuello M, Valdes Y, et al. Four monoclonal antibodies against capsular polysaccharides of *Neisseria meningitidis* serogroups A, C, Y and W135: its application in identity tests. *Biologicals* 2013;41(4):275-8.
7. World Health Organization. Requirements for Vi polysaccharide typhoid vaccine. Serie de reportes técnicos, 840. Geneva: WHO; 1994.
8. Fajardo ME, Delgado I, Riverón L, Izquierdo L, Iglesias N, Álvarez E, et al. Validación de un ELISA tipo inhibición para cuantificar polisacárido Vi en la vacuna antitifoídica cubana vax-TyV. *VacciMonitor* 2006;15(2):5-12.
9. Ramírez JC, Serrano B, Lara M, Fariñas M, Mirabal M, Sifontes S, et al. Estudio de inmunogenicidad de la vacuna antitifoídica cubana de polisacárido Vi vax-TyVi<sup>®</sup> en ratones. *VacciMonitor* 2006;15(2):1-4.
10. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256:495-7.
11. Gavilondo JV. Anticuerpos monoclonales. La Habana: Elfos Scientiae; 1995.
12. Wilson M, Nakane P. Recent development in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp W, Holubar K, Wick G, editors. *Immunofluorescence and related staining techniques*. Amsterdam: Elsevier; 1978.p.215-24.
13. Ochoa RF. Estandarización de técnicas inmunoenzimáticas. En *Técnicas inmunoenzimáticas. en el desarrollo clínico de vacunas*. La Habana: Finlay Ediciones; 2013.p.15-23.
14. Cabrera O, Cuello M, Soto C, Pérez O, Taboada C, Fariñas M, et al. Preparación y evaluación de conjugados de polisacárido Vi de *Salmonella typhi* con toxoide tetánico. *VacciMonitor* 2002;11(2):6-9.
15. Falero G, Rodríguez BL, Rodríguez I, Suzarte E, Otero O, Núñez N, et al. Generación de hibridomas de anticuerpos monoclonales contra la proteína de membrana externa U (OmpU) de *Vibrio cholerae*. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 2007;38(3):224-7.
16. Pongsuk S, Sarasombith S, Ekpo P, Tangtherawattana P, Levine M. Production of monoclonal antibodies to Vi polysaccharide antigen of *Salmonella Typhi*. *Asian Pac J Allergy Immunol* 1993;11(1):53-6.

---

## **Generation of a murine monoclonal antibody to capsular polysaccharide Vi from *Salmonella Typhi***

### **Abstract**

The conventional hybridoma technology has enabled the development of monoclonal antibodies (Mabs) against many antigens. Mabs have several applications in the field of basic research, diagnosis, immunotherapy and vaccine manufacturing processes. Mabs-producing hybridomas against the capsular polysaccharide from *Salmonella Typhi* were obtained, after intraperitoneal immunization of BALB/c mice with 10 µg of capsular polysaccharide Vi conjugated to diphtheria toxoid, and subsequent fusion of lymphocytes isolated of the spleen and myeloma cells SP2/O. A Mab was selected, partially characterized, and named as 4G3E11. The isotype of this Mab was IgG1. It was proved by means of a sandwich ELISA that the 4G3E11 Mab reacts with different concentrations of polysaccharide in samples of the vax-TyVi<sup>®</sup> vaccine. The Mab obtained in this research could be useful as reagent for the detection and quantitation of polysaccharide Vi in typhoid vaccines.

**Keywords:** polysaccharide Vi, *Salmonella Typhi*, hybridoma, monoclonal antibodies, typhoid fever.

---

*Recibido: Enero de 2015*

*Aceptado: Abril de 2015*