



UNIVERSITÉ  
LAVAL

Direction des services vétérinaires

Procédure normalisée de fonctionnement

Objet : Production d'anticorps polyclonaux chez le lapin	Numéro : TS-2
Portée : Ceci est une directive de la Direction des services vétérinaires à l'intention des utilisateurs et du personnel des animaleries de l'Université Laval (campus et centres de recherche affiliés).	
Préparée par Daphnée Veilleux-Lemieux <i>Vétérinaire responsable, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 3 décembre 2015
Révisée par Anne-Marie Catudal <i>Vétérinaire clinicienne, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 10 décembre 2015
But : Décrire les procédures d'immunisation du lapin pour la production d'anticorps polyclonaux.	Version 1

## Généralités

- Avant d'entreprendre cette procédure, le chercheur doit envisager l'acquisition d'anticorps produits commercialement (ex. <http://www.antibodyresource.com>).
- « L'immunogène doit être préparé de façon à déclencher une réponse acceptable sans nuire au bien-être des animaux. » (tiré des lignes directrices du Conseil canadien de protection des animaux (CCPA))
- Les lapins utilisés pour la production d'anticorps doivent provenir d'un fournisseur reconnu et être exempt d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS/SPF).
- Il est préférable d'utiliser des jeunes femelles adultes (2-2,5 kg) afin d'obtenir une quantité d'anticorps la plus élevée possible et d'optimiser l'utilisation de l'animal.
- Les manipulations directes de l'animal doivent être effectuées par des techniciens en santé animale de l'animalerie.
- « La décision d'employer ou non un adjuvant doit être mûrement réfléchi et justifiée. Les chercheurs doivent rechercher l'adjuvant le mieux adapté à l'antigène à employer à la lumière des connaissances les plus récentes sur les préparations immunogène/adjuvant. » (tiré des lignes directrices du CCPA)
- Plusieurs adjuvants sont disponibles et peuvent être employés afin de stimuler la réponse immunitaire de l'animal contre l'antigène d'intérêt. Leur utilisation est toutefois à analyser avec soin car tous peuvent avoir des effets indésirables marqués (ex. nécrose tissulaire, abcès, etc.). Ils doivent être utilisés uniquement lorsque la quantité de l'antigène est limitée et la production d'anticorps est faible.
- Si l'adjuvant complet de Freund (ACF) est utilisé, il doit être utilisé **uniquement** pour l'immunisation primaire et contenir moins de 0,5 mg/ml de mycobactéries.

- Le calendrier d'immunisation doit être choisie en fonction du type et de la dose de l'immunogène, de sa voie d'administration et de l'adjuvant utilisé.
- Généralement, 2 rappels sont requis afin qu'une réponse suffisante soit observée.

## Procédures

### Préparation de la solution antigénique

\* L'immunogène doit être non toxique, stérile et sans pyrogènes. L'utilisation de protéines dans du gel de polyacrylamide est associée à des réactions adverses au site d'injection et **doit être justifiée**.

- Travailler dans des conditions d'asepsie.
- Ajuster le pH aux limites physiologiques.
- Filtrer la solution à l'aide d'un filtre millipore (pores : 0,22 µm) pour s'assurer de la stérilité.
- Pour la plupart des adjuvants, il est nécessaire de créer une émulsion : utiliser un volume égal d'immunogène et d'adjuvant, 2 seringues Luer-Lock et un connecteur à verrouillage. Juste avant l'injection, faire passer plusieurs fois le mélange d'une seringue à l'autre jusqu'à l'obtention d'une substance pâteuse (attention : une émulsification incomplète peut entraîner un échec de l'immunisation).

### Préparation de l'animal

#### Prélèvement sanguin pré-immun

- Vérifier l'identification de l'animal.
- Prélever 5 à 10 ml de sang selon la PNF P-7, Prélèvement sanguin chez le lapin afin d'obtenir le sérum pré-immun.
- Noter le volume prélevé et le site dans le dossier de l'animal.

#### Première immunisation

- Tranquilliser l'animal selon la PNF A-3, Analgésie et anesthésie des lapins.
- Raser et rincer le site d'injection avec de la chlorhexidine (temps de contact 5 min).
- Injecter les volumes recommandés en choisissant la/les voie(s) appropriée(s) selon les tableaux 1 et 2.

**Tableau 1 : Voies d'administration permises\***

Première immunisation ou rappel(s)	
Sans adjuvant	Avec adjuvant
SC / IM	SC / IM

\* SC : sous-cutané, IM : intramusculaire

**Tableau 2 : Volume maximal pouvant être injecté par site**

Voie d'administration	Sans adjuvant (ml)	Avec adjuvant (ml)
Intramusculaire	0,5	0,25
Sous-cutané	1,5	0,25

- Noter les informations suivantes dans le dossier de l'animal;
  - Nom de l'antigène et de l'adjuvant;
  - Voie d'administration et sites d'injection;
  - Volume(s) administré(s).

#### Rappel(s) et titrage

- Ne jamais réutiliser l'ACF si utilisé lors de l'immunisation primaire.
- Attendre 3 à 4 semaines afin que la réponse immune primaire soit suffisante.
- Réinjecter selon les mêmes voies et volumes précédemment utilisés et à proximité des sites d'injection sauf si signes d'inflammation.
- Prélever 5 à 10 ml de sang afin d'obtenir le sérum 3 à 4 semaines après l'immunisation secondaire et répéter les étapes de rappel et de titrage si requis.

#### Collecte terminale de l'antisérum

- Vérifier l'identification de l'animal et peser celui-ci.
- Anesthésier profondément l'animal selon la PNF A-3, Analgésie et anesthésie des lapins.
- Après s'être assuré de l'absence de réflexe de retrait, procéder au prélèvement sanguin intracardiaque selon la PNF P-7, Prélèvement sanguin chez le lapin.
- Euthanasier l'animal conformément à la PNF EU-2, Euthanasie des grandes espèces de laboratoire.

## Références

CCPA, *Lignes directrices : production d'anticorps*, 2002.

Stuckow, M.A., Stevens, K.A., Wilson, R.P., *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*, Academic Press, 2012.

McGill, SOP # 406 Polyclonal antibody production – rabbits, 2009.