



UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS
PROGRAMA EDUCATIVO: **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**MANUAL DE PRÁCTICAS DE
INMUNOLOGÍA
VETERINARIA**



Elaboró:
AMALIA CABRERA NÚÑEZ

Aprobación
ACADEMIA: PRODUCCIÓN ANIMAL
H. CONSEJO TÉCNICO

TUXPAN, VER., JUNIO 2015



UNIVERSIDAD VERACRUZANA

DIRECTORIO

Dra. Sara Ladrón de Guevara
Rectora

Dr. José Luis Alanís Méndez
Vicerrector Poza Rica-Tuxpan

Dr. Domingo Canales Espinosa
Director General del Área Biológico Agropecuaria

Dr. Arturo Serrano Solís
Director de la Facultad

Mtro. Marco Antonio Alarcón Zapata
Jefe de Carrera de Medicina Veterinaria

Mtra. Amalia Cabrera Núñez
Responsable de la E.E.



Universidad Veracruzana

HOJA DE VALIDACIÓN

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS.
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

INMUNOLOGÍA VETERINARIA

**MANUAL DE PRÁCTICAS
PRESENTA: AMALIA CABRERA NÚÑEZ**

Vo. Bo
Jefe de Carrera de Medicina
Veterinaria y Zootecnia

Vo. Bo.
Coordinador de la Academia
de Producción Animal

Vo. Bo.
Director de la Facultad

ÍNDICE

	Pág.
Encuadre del sistema de prácticas	7
Introducción	7
Competencias profesionales a las que contribuye	7
Desarrollo de Habilidades	8
Nivel de desempeño	8
Programa del sistema de prácticas.	9
Prácticas Generales de Seguridad	9
Parámetro de evaluación	10
Lista de cotejo	11
Práctica 1. Preparación e inoculación de antígenos	12
Número de alumnos por unidad	13
Introducción	13
Propósito de la práctica	14
Criterios de desempeño	14
Resultados	14
Normas de seguridad	14
Programa de actividades	15
Material	15
Procedimiento de la práctica	17
Parámetros de Evaluación	19
Cuestionario	19
Bibliografía	19
Práctica 2. Sangrado y obtención de muestras séricas	20
Número de alumnos por unidad	21
Introducción	21
Propósito de la práctica	21
Criterios de desempeño	21
Resultados	21
Normas de seguridad	22
programa de actividades	22
Material	22
Procedimiento de la práctica	23
Parámetros de evaluación	24
Cuestionario	24
Bibliografía	25
Práctica 3. Determinación tipo sanguíneo	26
Número de alumnos por unidad	27
Introducción	27
Propósito de la práctica	28
Criterios de desempeño	28
Resultados	28

Normas de seguridad	29
programa de actividades	29
Material	29
Procedimiento de la práctica	29
Parámetros de evaluación	30
Cuestionario	30
Bibliografía	31
Práctica 4. Reacción de choque anafiláctico	32
Número de alumnos por unidad	33
Introducción	33
Propósito de la práctica	37
Criterios de desempeño	38
Resultados	38
Normas de seguridad	38
programa de actividades	38
Material	38
Procedimiento de la práctica	39
Parámetros de evaluación	39
Cuestionario	39
Bibliografía	40
Práctica 5. Fijación de complemento	41
Número de alumnos por unidad	42
Introducción	42
propósito de la práctica	42
Criterios	42
Resultados	42
Normas de seguridad	42
Programa de actividades	43
Material	43
Procedimiento de la práctica	43
Parámetros de evaluación	44
Cuestionario	44
Bibliografía	45
Práctica 6. Seroepidemiología	46
Número de alumnos por unidad	47
Introducción	47
propósito de la práctica	48
Criterios	48
Resultados	48
Normas de seguridad	48
Programa de actividades	49
Material	49
procedimiento de la práctica	49
Parámetros de evaluación	51

Cuestionario
Bibliografía

52
53

I. ENCUADRE DEL SISTEMA DE PRÁCTICAS

1.1 INTRODUCCIÓN

La EE de Inmunología, se imparte en el 5º. Semestre de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia del modelo MEIF. Esta experiencia se localiza en el área básica de iniciación a la disciplina, con tres horas teóricas, dos horas prácticas y ocho créditos.

La Inmunología Veterinaria es una disciplina científica cuyo desarrollo como conocimiento ha producido una gran cantidad de propuestas, las cuales responden a su vez a las diversas concepciones de conocimiento que han intervenido en su producción teórica, basándose en el estudio de toda respuesta inmunitaria humoral, tolerancia y los mecanismos de respuestas inmunitarias.

El inmunólogo en ejercicio requiere adoptar una postura teórica que lo guíe en su práctica profesional, mientras que el inmunólogo en formación necesita ejercer la reflexión epistemológica, tanto para el desarrollo de los proyectos de investigación e intervención contemplados en las experiencias educativas así como para la construcción de los diversos objetos de estudio en las demás experiencias educativas. Todo ello contribuye a la formación integral de los estudiantes en la medida en que promueve el desarrollo del intelectual y la apertura hacia la diversidad de formas de pensamiento.

1.2 COMPETENCIAS PROFESIONALES

- Desarrollar un conocimiento integral sobre los mecanismos inespecíficos de defensa e inmunidad específica, a la vez la importancia de la fagocitosis y los mecanismos de resistencia a nivel local y sistémico.
- Identificar y clasificar los principales antígenos como generadores de anticuerpos en el cuerpo animal, conociendo a través de la captación del antígeno como se lleva a cabo la inducción a la respuesta inmune.

- Conocer y analizar la importancia de la respuesta celular así como los tipos de respuesta que existen para generar inmunidad en el organismo animal.

1.3 DESARROLLO DE HABILIDADES

- Conocerá e identificará los mecanismos de defensa e inmunidad específica e inespecífica.
- Conocerá y describirá el proceso de la fagocitosis realizado durante la respuesta inmunitaria.
- Identificar la importancia de los principales antígenos como generadores de anticuerpos en el cuerpo animal.

1.4 NIVELES DE DESEMPEÑO

Para las prácticas programadas de zootecnia de bovinos de carne el nivel de desempeño es el 4.

Esto en relación a que se realizaran varias actividades de manera grupal durante el semestre con la finalidad de adquirir habilidades para identificar visualmente las principales razas destinadas a la producción de carne, así mismo la destreza para realizar las practicas de campo y clasificar a las razas en bos taurus y bos indicus.

NIVEL	DESEMPEÑO
1	Conocer e identificar los mecanismos de defensa e inmunidad específica e inespecífica.
2	Conocer y describir el proceso de la fagocitosis realizado durante la respuesta inmunitaria.
3	Identificar la importancia de los principales antígenos como generadores de anticuerpos en el cuerpo animal.

2. PROGRAMA DE SISTEMAS DE PRACTICAS

Unidad	Sesión y/o practica	Nombre de la Práctica	Objetivo de la Práctica	Ámbito de desarrollo	Programación		Nivel de desempeño
					Semanas	Duración	
1ª. Unidad	1	Preparación e inoculación de antígenos	Conocer las diversas técnicas para obtención y manejo de antígenos.	-Laboratorio microbiología	3	2 hrs.	4
	2	Sangrado y obtención de muestras séricas	Aprender los métodos de sangrado en distintas especies animales.	-Laboratorio microbiología	5	3 hrs.	4
	3	Determinación de tipo sanguíneo	Conocer y distinguir los principales tipos sanguíneos.	-Laboratorio microbiología	2	1 hr.	4
2ª. Unidad	4	Reacción de choque anafiláctico	Demostrar la anafilaxia en un animal de experimentación	-Laboratorio microbiología	4	2 hrs.	4
3ª. Unidad	5	Fijación del complemento	Identificar los procesos de activación del sistema del complemento.	-Laboratorio microbiología	2	2 hrs.	4

	4 ^a . Unidad	6	Seroepidemiología	Conocer los métodos existentes para identificar la frecuencia y caracterización de una enfermedad.	-Laboratorio microbiología	2	2 hrs.	4
--	----------------------------	---	-------------------	--	----------------------------	---	--------	---

3. PRÁCTICAS GENERALES DE SEGURIDAD

1. Se prohíbe fumar, comer o beber dentro de los sistemas de producción pecuaria y las instalaciones de las exposiciones ganaderas al realizar las actividades programadas.
2. Realizar las actividades siempre en orden y en silencio, utilizando adecuadamente equipo solicitado
3. Al finalizar las actividades todo el material de desecho deberá ponerse en bolsas de plástico y desecharse según las normas de seguridad.
4. Las prácticas generales de seguridad estarán basadas en la siguiente normatividad: NOM-061-ZOO-1999, NOM-001-STPS-2008, NOM-002-STPS-2010, NOM- 017-STPS-2008, NOM- ISO 17025, NOM-060-ZOO-1999.

4. PARÁMETRO DE EVALUACIÓN

	Seguridad general	10%
	Identificación de los principales antígenos	40%
	Aplicación de las técnicas para las reacciones de aglutinación	30%
	Reporte de la practica	10%
	Orden y buen desempeño durante las prácticas recomendadas	10%

5. LISTA DE COTEJO

PARÁMETROS	EVALUACIÓN DEL ESTUDIANTE
¿Trajiste impresa la metodología y la hoja de cotejo?	
¿Utilizaste la bata de forma correcta?	
¿Utilizaste el equipo personal de protección adecuado para la práctica?	
¿Respetaste las normas de conducta y seguridad?	
¿Elaboraste el listado de los antígenos observados?	
¿Realizaste la clasificación de las etapas de fagocitosis?	
¿Conoces las reacciones de aglutinación?	
¿Aplicaste las técnicas de aglutinación?	



Universidad Veracruzana

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

PRÁCTICA No. 1



PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE ANTÍGENOS

Responsable de la práctica

Mtra. Amalia Cabrera Núñez

Tuxpan; Ver. Junio 2015

Número de profesionales en formación por unidad de práctica (en su caso).- Equipos de 5 integrantes.

❖ INTRODUCCIÓN

Se denominan antígenos, a las sustancias que al ser introducidas al organismo, inducen una respuesta inmune detectable, y que puede ser relacionada con los mecanismos efectores humorales o celulares de la respuesta. El término antígeno se utiliza para designar a cualquier sustancia o célula (ej), bacterias, virus, glóbulos rojos, células de transplantes, o algunos componentes de éstos, como: proteínas, lipolisacáridos) que es reconocida como extraña por el sistema inmune; también se utiliza para designar a uno de los reactivos de las pruebas serológicas, ej., antígeno de tarjeta, antígeno de salmonelosis.

Inmunógeno es una sustancia como el "antígeno", pero que no se utiliza en reacciones de laboratorio sino que sirve para establecer en estado de inmunidad en un individuo, esto es que lo proteja contra agentes infecciosos (vacuna, bacterina, toxoide, etc.).

Las características inmunogénicas de una sustancia a o célula, son:

1.- Composición química.- Los mejores antígenos son los de naturaleza proteica, siguiendo en orden de importancia ciertos polisacáridos, lípidos complejos y en raras ocasiones ácidos nucleicos u otras sustancias, como es el caso de la penicilina. Esto es debido a la complejidad con que están contruidos, los más simples son los de composición isomérica.

2.- Carácter de extraño.- Esta se refiere a la distancia que guardan las moléculas en su carácter ontogénico y filogénico, ya que el sistema inmune tiene la capacidad de reconocer lo propio de lo no propio (fenómeno de tolerancia); por ejem. la albúmina sérica bovina inoculada en un conejo proporciona una fuerte reacción, mientras que en un ovino la respuesta es mucho menor.

3.- Peso molecular.- Se ha observado que rebasando la cifra de 10,000 daltones se obtienen mejores respuestas inmunogénicas, aunque esto no es definitivo, pues también hay respuesta a moléculas de pesos menores, tales como: insulina y glucagon.

4.- Rigidez estructura.- Además de poseer cierto tipo de complejidad, la molécula debe ser estable en el espacio para poder establecer mejores respuestas contra ella; en esto los aminoácidos sulfurados tienen un papel muy importante.

Para una adecuada respuesta inmune, se requieren antígenos (inmunógenos) con alto grado de pureza e integridad, ya que del m,todo empleado para su obtención depender la especificidad de la reacción y el m,todo de diagnóstico empleado para detectar su respuesta postinoculación.

❖ **PROPÓSITO DE LA PRÁCTICA**

Conocer las diversas técnicas para obtención y manejo de antígenos, el uso de adyuvantes, dosis y vías de administración; dando a estos conocimientos, aplicaciones de uso terapéutico y de medicina preventiva, así como dilucidar mecanismos inmunológicos básicos, Provocando respuestas inmunes en distintas especies animales, contra diversos antígenos.

❖ **CRITERIOS DE DESEMPEÑO**

-El profesional en formación será competente en conocer y clasificar cuales son los antígenos capaces de causar una inmunorreacción primaria y secundaria.

❖ **RESULTADOS ESPERADOS**

-Los integrantes de cada equipo realizaran la identificación de antígenos con la finalidad de recolectar muestras de alimento las cuales serán llevadas al laboratorio el día de la práctica o 24 horas antes.

-Describir los antígenos analizados.

-Clasificar los antígenos observados.

❖ **NORMAS DE SEGURIDAD**

Esta práctica representa un bajo riesgo, no obstante es importante acatar el reglamento vigente colocado a la entrada del laboratorio. Las prácticas generales de seguridad estarán basadas en la siguiente normatividad: NOM-061-ZOO-1999 NOM-001-STPS-2008, NOM-002-STPS-2010.

❖ PROGRAMA DE ACTIVIDADES

-El alumno portara la práctica de laboratorio misma que habrá leído previamente, así como la hoja de reporte (Anexo) la que será firmada por el profesor como medida de que ya leyó y entendió, así como verificativo de asistencia.

-Cada alumno tomará su propia nota

-Antes de cada práctica se deberá verificar el adecuado funcionamiento de los equipos.

-Los equipos trabajaran en forma coordinada.

-Los resultados y notas de la práctica serán revisados en la siguiente sesión llevando la firma del profesor y fecha, mismos que se anexarán al reporte de la práctica, en caso de no incluirlos la práctica no será válida.

❖ MATERIAL

1.- PARA LA ELABORACIÓN DE UNA AUTOVACUNA DE PAPILOMAS.

1 Mortero y pistilo
1 centrífuga con sus tubos de centrifuga
1 tijeras
1 pinzas
1 embudo
1 vaso de precipitados
1 estufa de cultivo a 37 °C
1 gasa estéril
100gr. de arena estéril
tres jeringas de 5 mL con aguja
antibióticos (penicilina y estreptomina)
PAPILOMAS O VERRUGAS.

2.- PARA LA ELABORACIÓN DEL ANTÍGENO DEL CHOQUE ANAFILÁCTICO.

1 huevo fresco de gallina
5 tubos de ensaye estériles
Penicilina (400,000 UI)
un conejo
3 jeringas de tres mL
1 de 10 mL.

3.- PARA LA ELABORACION DEL ANTÍGENO DE LA REACCIÓN DE ARTHUS.

Suero sanguíneo de equino (caballo)
2 tubos de ensaye estériles
3 jeringas de 3 mL con aguja
1 conejo.

4.- PARA LA ELABORACIÓN DEL ANTÍGENO DE LA REACCIÓN DE BORDET-GENGOU.

4 jeringas de 3 mL con aguja
1 litro de solución salina fisiológica 0.15 Ml.
2 tubos de ensaye estériles
1centrífuga
sangre de OVEJA con anticoagulante
1 conejo.

5.- PARA LA ELABORACIÓN DEL ANTÍGENO DE LA IDENTIFICACIÓN DE CARNES (COPTOANTIGENOS).

1 Mortero y pistilo
5 jeringas de 3 mL con aguja
1 litro de solución salina fisiológica 0.15 Ml.
2 tubos de ensaye estériles
1 centrífuga
1tijera y pinzas
1 embudo
1vaso de precipitados
gasa estéril,
1 adyuvante (melox)
1 conejo
muestra cárnica.

6.- PARA LA ELABORACIÓN DE UN ANTÍGENO PARASITARIO.

1 Mortero y pistilo
1 litro de solución salina fisiológica 0.15 Ml.
2 tubos de ensaye estériles
1 centrífuga,
1 tijera y pinzas
1 embudo
1 vaso de precipitados
gasa estéril
parásitos

❖ PROCEDIMIENTO DE LA PRÁCTICA

1.- ELABORACIÓN DE UNA AUTOVACUNA: En el caso de los papilomas, estos se trocean lo más pequeño posible, se pesan y colocan en un mortero. Se vuelven a triturar con las tijeras y posteriormente serán macerados con el pistilo, agregando arena estéril para facilitar la destrucción tisular y celular. Luego se añade la SSF hasta lograr una suspensión al 20% (4 mL de SSF por cada gramo de tejido).

Filtrar por una gasa estéril y centrifugar a 2000 rpm por 10-15 min. Titular el sobrenadante y, por cada mL agregar 500 UI de penicilina y 500 ug de estreptomicina; como conservados e inactivador del virus se usa formol al 1%, incubar a 37 °C durante 24 horas, refrigerar hasta su uso. Aplicar subcutáneamente 5 mL, repitiendo cada 8 días, hasta hacer un total de tres aplicaciones.

2.- ANTÍGENO DEL CHOQUE ANAFILÁCTICO: Diluir un mL de ovoalbúmina (clara de huevo), en 9 mL de SSF y homogeneizar. Hacer un total de tres inoculaciones de 1 mL subcutáneamente en intervalos de un día.

3.- ANTÍGENO DE LA REACCIÓN DE ARTHUS: Sangrar a un equino (20 mL aprox.), dejando que el coágulo se retraiga y centrifugar. Obtener el suero y recentrifugar, posteriormente colocarlos en tubos de ensaye limpios en alícuotas (pequeñas porciones) y preparadas para su inoculación. Congelar hasta su uso.

Protocolo de inoculación

Vías	Días y dosis (en mililitros)					
	0	3	6	9	12	50
IM	1.0	1.5	1.5	2.0	2.0	-----
SC	----	----	----	----	----	2.0

4.- ANTÍGENO DE LA REACCIÓN DE BORDET-GENGOU.- Obtener sangre de oveja (5-10 mL) y colocarla en un tubo de ensaye con anticoagulante (citrato de sodio, heparina, E.D.T.A., etc.).

Una vez en el laboratorio, lavar repetidamente los glóbulos rojos con SSF, centrifugando a 1000 rpm por 5 minutos. Una vez lavados, se les resuspende al 10% e inocular según protocolo:

Vías	Días y dosis (en mililitros)					
	0	3	6	9	12	30
IM	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

5.-ANTÍGENO DE LA IDENTIFICACIÓN DE CARNES (COPTOANTIGENOS): El propósito de esta práctica es poder determinar algunos fraudes que se cometen en la industria de la chacinería y en el negocio de la carne, en los cuales la carne de animales es la materia primordial.

Tomar un trozo de carne magra, pesarla, luego se trocea finamente con pinzas y tijeras, se debe de macerar hasta obtener una verdadera papilla, la cual se suspende en SSF hasta quedar al 20%, se filtra por gasa estéril y se centrifuga a 2000 rpm durante 10 minutos. Al sobrenadante habrá que agregarle timerosal (quedando en una concentración final de 1:100 000) o azida sódica a una concentración final de 0.02%. Una parte del sobrenadante es calentado en baño maría a 60 C durante 30 minutos y se mezcla con el resto ("crudo"), quedando así un mismo antígeno en dos presentaciones. Aplicar siguiendo el siguiente esquema:

Vías	Días y dosis (en mililitros)					
	0	3	6	12	15	30
IM	1.0	1.5	1.5	2.0	2.0	2.5
Adyuvante	1.0	0.5				

6.- ANTÍGENO PARASITARIO: Los parásitos (*Fasciola hepatica*), deben ser frescos, y haber sido lavados repetidas veces en SSF, hasta que se liberen de toda la materia orgánica que los rodea, se secan y taran, luego son macerados y suspende la papilla al 10% con SSF, centrifugar y posteriormente titular la proteína del sobrenadante (SN) con un m,todo apropiado (Biuret o Kjellidal), ajustar a una concentración de 0.3% de proteína. Congelar en alícuotas a -20 °C hasta su uso; también puede usarse fresco (No refrigerar más de una semana); puede liofilizarse y guardarse hasta seis meses en refrigeración. Para su uso: aplicar 0.2 mL intradérmicamente en el pliegue caudal de los bovinos sospechosos.

❖ PARÁMETROS DE EVALUACIÓN

Los valores se presentan a continuación:

Indicadores	%
Asistencia a la practica	10
Cuadro comparativo	20
Cuestionario	20
Lista de cotejo	20
Entrega del reporte	30
Total	100

❖ CUESTIONARIO:

- 1.- ¿Qué son los antígenos?
- 2.- ¿Cómo están constituidos?
- 3.- ¿Qué es inocular?
- 4.- ¿Cómo actúan los anticoagulantes? Principios en que se basa su acción
- 5.- Investigue y describa brevemente el método de Kjellidal para la titulación de proteínas.
- 6.- ¿En qué consiste la liofilización?

❖ BIBLIOGRAFÍA:

- Barret, J.T. Inmunologia 1990. 1a. Ed. Edit. Interamericana. pp. 190-191
- Dean ,J., Dean, A., Burton, A. and Dicker, R. EPI-INFO 5.0. 1990. Traduc. por: Fernández-Merino, J. C. Atlanta, Ga. USA.
- Jawetz, E. 1997. Manual De Microbiologia Medica. México; D.F. p. 178



Universidad Veracruzana

**UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

PRÁCTICA No. 2



SANGRADO Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS SÉRICAS

Responsable de la práctica

Mtra. Amalia Cabrera Núñez

Tuxpan; Ver. Junio 2015

Número de profesionales en formación por unidad de práctica (en su caso).- Equipos de 5 integrantes.

❖ INTRODUCCIÓN

Es muy importante conocer la obtención del suero sanguíneo de las diferentes especies animales (de laboratorio y de granja), ya que es la principal fuente de reactores en las pruebas de inmunidad.

En el suero de animales y hombre, es posible detectar una gran cantidad de proteínas, tales como: albúmina, hemoglobina, globulinas (alfa α , beta α y gama γ); siendo estas dos últimas globulinas las principales para nuestras necesidades en el laboratorio.

La obtención de muestras séricas se hace a partir de la sangre, existiendo diferentes métodos para lograr esto. Una vez obtenida la muestra se coloca en un tubo de ensaye y este se inclina y se mantiene en dicha posición hasta que haya formado el coágulo, el cual al retraerse soltar mayor cantidad de suero.

Los animales se sangran antes de la inoculación del antígeno, esto servir como "testigo control". Esta sangría se inicia comúnmente entre el 5° y 7° día después de la última inoculación.

❖ PROPÓSITO DE LA PRÁCTICA

Aprender los métodos de sangrado en distintas especies animales, las diferentes vías para su consecución, manejo adecuado de la muestra; así como el tiempo necesario para obtener sueros por inoculación o por infecciones naturales.

❖ CRITERIOS DE DESEMPEÑO

- Serás competente para explicar los métodos de sangrado realizado a las distintas especies-
- Serás competente para identificar, clasificar y realizar las distintas vías de sangrado.

❖ RESULTADOS ESPERADOS

Los integrantes de los equipos determinaran, calcularan e interpretaran los resultados de los métodos de sangrado.

❖ **NORMAS DE SEGURIDAD**

Esta práctica representa un bajo riesgo, no obstante es importante acatar el reglamento vigente colocado a la entrada del laboratorio. Las prácticas generales de seguridad estarán basadas en la siguiente normatividad: NOM-061-ZOO-1999 NOM-001-STPS-2008, NOM-002-STPS-2010.

❖ **PROGRAMA DE ACTIVIDADES**

- El alumno portara la práctica de laboratorio misma que habrá leído previamente, así como la hoja de reporte (Anexo) la que será firmada por el profesor como medida de que ya leyó y entendió, así como verificativo de asistencia.

-Cada alumno tomará su propia nota.

-Los equipos trabajaran en forma coordinada.

-Los resultados y notas de la práctica serán revisados en la siguiente sesión llevando la firma del profesor y fecha, mismos que se anexarán al reporte de la práctica, en caso de no incluirlos la práctica no será válida.

❖ **MATERIAL**

Biológico:

1 Raton, rata, hámster (criceto), cuyes (cobayos)

1 conejo

1 ave (pollo o gallina).

Químico:

1 fco. De Antisépticos (alcohol al 70%, Benzal, tintura de yodo, etc.)

Instrumental:

5 Agujas estériles (diferentes calibres y longitudes)

5 jeringas estériles (varias medidas)

5 tubos capilares heparinizados

5 pipetas tipo Pasteur

5 tubos de ensaye estériles (varias medidas)

1 paquete de algodón.

❖ PROCEDIMIENTO DE LA PRÁCTICA

La forma de obtener las muestras varían debido a las características anatómicas de cada especie animal:

Ratones, ratas, cricetos y cuyes:

- a).- punción intracardiaca
- b).- punción de la vena de la cola (corte)
- c).- punción del plexo retro-orbital

Conejos:

- a).- punción intracardiaca
- b).- corte y/o punción de la vena marginal auricular.

Aves:

- a).- punción de la vena braquial
- b).- punción intracardiaca
- c).- corte de las barbillas o crestas

PUNCIÓN DEL PLEXO RETROORBITAL: Este se realiza por inserción de un tubo capilar heparinizado en la comisura interna del ojo, girando suavemente para poder lesionar los capilares al presionarlos contra el fondo de la cavidad. Con este método se pueden obtener 0.4-0.8 mL de sangre de ratones en intervalos de 1-2 semanas.

PUNCIÓN INTRACARDIACA: Se debe insertar una aguja hipodérmica en el costado izquierdo del animal (previamente anestesiado), entre el tercero o quinto espacio intercostal, o a través del diafragma a la altura de los apéndices xifoides con una inclinación alrededor de 30 °. Al penetrar al corazón se pueden sentir los latidos, la sangre debe colectarse lentamente. Con este método se consigue coleccionar hasta 5 mL de sangre de una rata de 250 g con intervalos de 15 días.

CORTE DE LA VENA MARGINAL AURICULAR: Se coloca al animal en una caja de sujeción para conejos o se envuelve en una sábana. Una de las orejas se humedece con jabón y agua y se rasura la superficie superior del borde posterior (sobre la vena marginal). Una vez rasurada el área, se seca con gasa y se hace antisepsia, luego se practica una incisión diagonal sobre la vena, colocando enseguida el tubo colector, una vez obtenida la cantidad deseada, se procede a hacer hemostasis por presión con los dedos pulgar e índice. Podemos hacer esta práctica cada 3-4 semanas.

PUNCIÓN DE LA VENA BRAQUIAL: De esta vena que corre sobre el extremo proximal del cúbito y del radio, se pueden obtener 5 mL de sangre de un pollo de 12 semanas de edad y hasta 10 mL de un ave adulta.

SEPARACIÓN DEL SUERO.- Esta operación debe realizarse de preferencia en forma estéril. Cuando se produce la coagulación se debe separar el coágulo de las paredes del tubo de ensaye y centrifugarse a unas 2,000 rpm, durante diez minutos. El suero puede recentrifugarse en tubos limpios para eliminar células contaminantes. Posteriormente debe guardarse en congelación y se le pueden añadir preservativos tales como fenol al 5% (un ml por cada 20 ml de suero, concentración final 0.25%) o mertiolate al 1:1000 (un ml por cada diez ml de suero, concentración final, 1:10000). NOTA: El fenol debe agregarse gota a gota a fin de no desnaturalizar al suero; con estas sustancias el suero sanguíneo se puede mantener por años en refrigeración. Si se objeta el uso de tales preservativos, el suero sanguíneo se puede conservar congelado (-20 °C, -70 °C o temperaturas menores) o liofilizarse para guardarlo en refrigeración.

❖ **PARÁMETROS DE EVALUACIÓN:**

Las habilidades desarrolladas durante la práctica y los conocimientos adquiridos se evaluarán a través del informe de resultados. Además se le cuestionará sobre los contenidos de su reporte. La practica se entregará dos días después de finalizada la actividad de laboratorio realizando las observaciones pertinentes para mejorar la calidad de la misma. Las actitudes se evaluarán a través de la responsabilidad mostrada por el estudiante durante su práctica.

Los valores se presentan a continuación:

Indicadores	%
Asistencia a la practica	10
cumplir con todo el material y equipo solicitado	20
Cuestionario	20
Lista de cotejo	20
Entrega del reporte	30
Total	100

❖ **CUESTIONARIO:**

- 1.-¿Qué es el suero sanguíneo?
- 2.- ¿Qué es el plasma?
- 3.- ¿Cómo se puede obtener el suero sanguíneo?

- 4.- ¿Cuáles son los principales componentes del suero sanguíneo?
 5.- ¿Para qué debemos inclinar el tubo de ensayo cuando tiene sangre?

❖ **LISTA DE COTEJO**

PARÁMETROS	EVALUACIÓN DEL ESTUDIANTE
¿Trajiste impresa la metodología y la hoja de cotejo?	
¿Conoces los diferentes métodos de obtención de la muestra sanguínea?	
¿Existen diferencias entre el suero sanguíneo humano y el de las diferentes especies animales?	
¿Qué importancia tiene el suero sanguíneo en inmunología?	

❖ **BIBLIOGRAFÍA**

- Coffín, D.L. Laboratorio Clínico En Medicina Veterinaria. La Prensa Médica Mexicana, México, D.F.
- Estrada-Parra, S. Manual De Practicas De Inmunología. Escuela Nacional De Ciencias Biológicas. IPN. 1983. México D.F.
- Morilla González, A., Bautista Gárfias, R. Manual De Inmunología. Ed. Diana-Técnico. 1a. Edición. 1986. México, D.F.
- Tizard, I. Inmunología Veterinaria. Interamericana. Mcgraw-Hill. 4a. Ed. 1995. México, D.F.



Universidad Veracruzana

**UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

PRÁCTICA No. 3



DETERMINACIÓN DEL TIPO SANGUÍNEO

Responsable de la práctica

Mtra. Amalia Cabrera Núñez

Tuxpan; Ver. Junio 2015

Número de profesionales en formación por unidad de práctica (en su caso).- Equipos de 5 integrantes.

❖ INTRODUCCIÓN

Los antígenos que se encuentran en individuos de una misma especie o familia se les denomina Isoantígenos (aloantígenos). En el hombre, los más representativos son los de la sangre, de los cuales son más conocidos los de los sistemas (A,B,O), (Rh), (MNSP) y pertenecen a los antígenos del sistema mayor de histocompatibilidad (HLA).

El primer sistema sanguíneo que fue bien estudiado fue el ABO, por Karl Landsteiner a principios de Siglo, él encontró que las personas que poseían un determinado tipo sanguíneo no podían recibir sangre de un donador de otro tipo, con ciertas excepciones, como el tipo O (cero), que es considerado como “Donador Universal”.

Los problemas de no aceptar a otro tipo sanguíneo (antigénico) algún individuo, se debe a que él tiene en forma natural y “espontánea” anticuerpos contra los antígenos que no posee. Estos anticuerpos se adquieren debido a que algunas enterobacterias poseen antígenos cruzados con los de los grupos sanguíneos humanos; por lo tanto, al estar éstas en el tubo digestivo, el sistema mononuclear fagocitario las pone en contacto con el aparato inmune (linfocitos T y B), y se elaboran anticuerpos “anti” antígenos bacterianos. Lo anterior se demuestra por el hecho que los niños recién nacidos no poseen estos anticuerpos sino hasta que empiezan a tener contacto con el medio.

El sistema sanguíneo Rh (Rhesus) es importante porque existe un problema clínico denominado eritroblastosis fetal, el cual se presenta cuando procrean hijos un hombre Rh positivo y una mujer Rh negativo. En estos dos sistemas sanguíneos es clásica la transmisión de ellos bajo un sistema de herencia Mendeliana dominante (A, B, Rh POSITIVO).

En los animales domésticos los tipos sanguíneos se encuentran como humorales y celulares, esto es, para determinarlos es necesario hacer una cuantificación de ellos en un sistema electroforético y por medio de algunas reacciones de precipitación. En los bovinos, por ejemplo, estos sistemas nos pueden ayudar a descartar la paternidad atribuida a determinado animal, así como para señalar algunas características productivas (genotípicas) del animal en cuestión, por ejemplo: pureza de raza, etc., esto se logra por determinación de la movilidad electroforética que tengan la transferrina (β -globulina), hemoglobina y

albúmina. En las especies domésticas, la heredabilidad de estos caracteres es siguiendo el sistema Mendeliano dominante.

❖ **PROPÓSITO DE LA PRÁCTICA**

Todos los animales poseen en la superficie de sus células antígenos que determinan la identidad individual permitiendo esto la conservación del estado homeostático denominado “autotolerancia”, el cual nos permite vivir en presencia de la carga antigénica que poseemos cada individuo. Por lo anterior esta práctica tiene como finalidad demostrar las reacciones antigénicas que se presentan entre los diferentes grupos sanguíneos.

❖ **CRITERIOS DE DESEMPEÑO**

- Serás competente para demostrar las reacciones antigénicas que se presentan entre los diferentes grupos sanguíneos.

❖ **RESULTADOS ESPERADOS**

-El profesional de la materia será competente para demostrar las reacciones antigénicas que se presentan en los diferentes grupos sanguíneos.

❖ **NORMAS DE SEGURIDAD**

Esta práctica representa un bajo riesgo, no obstante es importante acatar el reglamento vigente colocado a la entrada del laboratorio. Las prácticas generales de seguridad estarán basadas en la siguiente normatividad: NOM-061-ZOO-1999 NOM-001-STPS-2008, NOM-002-STPS-2010.

❖ **PROGRAMA DE ACTIVIDADES**

- El alumno portara la práctica de laboratorio misma que habrá leído previamente, así como la hoja de reporte (Anexo) la que será firmada por el profesor como medida de que ya leyó y entendió, así como verificativo de asistencia.

-Cada alumno tomará su propia nota.

-Los equipos trabajaran en forma coordinada.

-Los resultados y notas de la práctica serán revisados en la siguiente sesión llevando la firma del profesor y fecha, mismos que se anexarán al reporte de la práctica, en caso de no incluirlos la práctica no será válida.

❖ MATERIAL

- 1 Lanceta de Froenkel o punzón.
- 1 paquete de algodón
- 1 fco de alcohol
- Palillos de dientes
- 1 Placa de porcelana o de vidrio, con negatoscopio.
- Antisueros: anti-A, anti-B y anti-Rh (anti D).

❖ PROCEDIMIENTO DE LA PRÁCTICA

Punzar con una lanceta la yema del dedo o el lóbulo del pabellón de la oreja, previamente asépticos, se obtienen unas gotas de sangre que se depositan en diferentes cavidades de la placa de porcela o cuadros de la placa de vidrio (no dejar coagular), sobre cada gota de sangre verter una gota de antisuero específico y agitar con un palillo de dientes difrente para cada gota, luego se hace rotar la placa para que se homogeinicen mejor los reactivos y observar la reacción, deben esperarse al menos tres minutos para obtener buenos resultados, se debe observar la aglutinación de los eritrocitos.

❖ INTERPRETACIÓN

- *Si se observa aglutinación con anti-A el resultado es tipo sanguíneo A
- *Si se observa aglutinación con anti-B el resultado es tipo sanguíneo B
- *Si se observa aglutinación con los dos el resultado es tipo sanguíneo AB
- *Si no se observa aglutinación con ninguno el resultado es tipo sanguíneo O
- *Si se observa aglutinación con anti-Rh (D) el resultado es tipo sanguíneo Rh POSITIVO

❖ OBSERVACIONES

	A	B	AB	O	Rh +	Rh-
NOMBRE						

❖ PARÁMETROS DE EVALUACIÓN:

Las habilidades desarrolladas durante la práctica y los conocimientos adquiridos se evaluarán a través del informe de resultados, además se le cuestionará sobre los contenidos de su reporte. La práctica se entregará dos días después de finalizada la actividad de laboratorio realizando las observaciones pertinentes para mejorar la calidad de la misma. Las actitudes se evaluarán a través de la responsabilidad mostrada por el estudiante durante su práctica.

Los valores se presentan a continuación:

Indicadores	%
Asistencia a la practica	10
Cuadro comparativo	20
Cuestionario	20
Lista de cotejo	20
Entrega del reporte	30
Total	100

❖ CUESTIONARIO:

- 1.- Investigue otros isoantígenos de los humanos
- 2.- Investigue cuales son los principales sistemas sanguíneos de los animales. Bovino, Equino, Suino, Cánido.
- 3.-Haga un cuadro que muestre los antígenos y anticuerpos que presenta cada tipo sanguíneo humano, así como las posibilidades (aceptación o rechazo) de una transfusión.
- 4.- Existe este peligro en las transfusiones sanguíneas realizadas en los animales domésticos? y ¿por qué?
- 5.- Defina eritroblastosis fetal y isoeritrolisis neonatal
- 6.- ¿Cuales especies domésticas presentan isoeritrolisis neonatal, comúnmente?
- 7.- ¿Cómo se puede solucionar este problema en la clínica?

❖ LISTA DE COTEJO

PARÁMETROS	EVALUACIÓN DEL ESTUDIANTE
¿Trajiste impresa la metodología y la hoja de cotejo?	
¿Qué diferencias existen entre grupo y sistema sanguíneo?	

<p>¿Qué problemas clínicos puede ocasionar la transfusión entre tipos sanguíneos diferentes?</p>	
<p>Indica las diferencias que existen entre la hemaglutinación (en virología) y la isoheamaglutinación.</p>	

❖ BIBLIOGRAFÍA

- Jawetz, E. 1998. Manual De Microbiología Médica. México. D.F. Pp. 178
- Merchant, I.A; Packer, R.A. 2000.Veterinary Bacteriology and Virology. 7a. Ed. Edit. Iowa State, University Press, USA. Pp. 194-195.
- Barret, J.T. Inmunología 1a. Ed. 2000. Editorial Interamericana. México;D.F. Pp. 208-209



Universidad Veracruzana

**UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

PRÁCTICA No. 4



REACCIÓN DE CHOQUE ANAFILACTICO

Responsable de la práctica

Mtra. Amalia Cabrera Núñez

Tuxpan; Ver. Junio 2015

Número de profesionales en formación por unidad de práctica (en su caso).- Equipos de 5 integrantes.

❖ INTRODUCCIÓN

La manifestación clínica de la anafilaxia varía en las diferentes especies animales, debido a que se pueden utilizar diversos mecanismos patogénicos (aminas vaso activas), para su presentación, de que cada especie animal tiene un órgano específico (órgano blanco), en donde se realiza principalmente la reacción.

Características de la anafilaxia en diferentes especies animales

Especie: **Hombre**

Tiempo: Aparición en segundos y Muerte en 10-15 minutos

Mediador químico: Histamina, Substancia de reacción lenta-anafiláctica (SRL-A), cininas (?)

Org. blanco: Tracto respiratorio

Manifestaciones clínicas: Edema de la lengua y garganta. Disnea y colapso. Picor y eritema en la piel.

Patología: Edema obstructivo del tracto respiratorio. Hipotensión. Enfisema

Especie: **Conejo**

Tiempo: Aparición en 10-15 segundos y Muerte en 2-3 minutos

Mediador químico: Histamina, serotonina SRL-A

Org. blanco: arterias y arteriolas pulmonares

Manifestaciones clínicas: disnea, cianosis con convulsiones y colapso

Patología: trombos en arterias y arteriolas pulmonares, dilatación de corazón derecho.

Especie: **Cuyo**

Tiempo: Aparición en 1-2 minutos y Muerte en 2-3 minutos

Mediador químico: Histamina, cininas

Org. blanco: bronquiolos

Manifestaciones clínicas: Tos, disnea, cianosis, convulsiones y colapso.

Patología: enfisema, bronquiolos obstruidos. Hipotensión. Pancitopenia

Especie: **Perro**

Tiempo: Aparición en 10 segundos y Muerte en 60 minutos o más

Mediador químico: Histamina, cininas

Org. blanco: venas hepáticas

Manifestaciones clínicas: vómitos, diarrea. Hipotermia. Parálisis de miembros.
Colapso

Patología: Sistema porta congestionado. Hipotensión. Hemorragia visceral

Especie: **Ratón**

Tiempo: Aparición en 5-10 minutos y Muerte en 10-40 minutos

Mediador químico: Serotonina, cininas

Org. blanco: Vasos. Pulmón. Intestino.

Manifestaciones clínicas: Cianosis, disnea. Hipotermia. Par lisis de miembros.
Colapso

Patología: Lisis de células intestinales. Hipovolemia

Especie: **Rata**

Tiempo: Aparición en 5-10 minutos y Muerte en 30 minutos, hasta 5 horas.

Mediador químico: Serotonina, cininas, Histamina

Org. blanco: Vasos. Intestino.

Manifestaciones clínicas: Cianosis, disnea y convulsiones. Colapso.

Patología: Hipovolemia. Hemorragia en íleon.

Especie: **Gato**

Mediador químico: Histamina

Org. blanco: Vías respiratorias. Intestino.

Manifestaciones clínicas: Prurito. Vómito. Diarrea. Disnea.

Patología: Edema pulmonar e intestinal.

Especie: **Cerdo**

Mediador químico: Histamina

Org. blanco: Vías respiratorias e intestino.

Manifestaciones clínicas: Cianosis. Prurito. Colapso.

Patología: Hipotensión genera.

Especie: **Caballo**

Mediador químico: Histamina, serotonina, cininas

Org. blanco: Vías respiratorias

Manifestaciones clínicas: Tos, disnea.

Patología: Enfisema. Hemorragias intestinales.

Especie: **Vaca**

Mediador químico: Serotonina, SRL-A, histamina, cininas

Org. blanco: Vías respiratorias

Manifestaciones clínicas: Tos, disnea. Colapso.

Patología: Edema pulmonar, enfisema. Hemorragia

Especie: **Ovino y caprino**

Mediador químico: Serotonina, SRL-A, histamina, cininas

Org. blanco: Vías respiratorias

Manifestaciones clínicas: Tos, disnea. Colapso.

Patología: Edema pulmonar, enfisema. Hemorragia

En la mayoría de las especies animales, la anafilaxia resulta de la liberación y acción de los mediadores químicos en los sitios localizados en el órgano de choque, al parecer la histamina es el principal mediador, esta sustancia se encuentra en los gránulos de células tales como mastocitos (células cebadas o de Ehrlich), basófilos y plaquetas, de otras sustancias como la serotonina y la SRL-A, aunque la cantidad e importancia de cada mediador depende de cada especie animal (ver cuadro). La liberación de los mediadores a partir de estas células, explica completamente la anafilaxia en algunas especies; por ejemplo: la gran cantidad de mastocitos en el hígado del perro.

Cuando se realiza la unión Ag-Ab en la superficie de las células portadoras de estas sustancias hay una excitación en membrana mediada por el ácido araquidónico y permite la entrada de calcio extracelular, esto es suficiente para que haya un desequilibrio en la relación AMPcíclico/GMPc y los gránulos se

empiecen a mover y fusionar entre ellos en el citoplasma para permitir la liberación de estas aminas vaso activas.

Es cierto que la histamina no es el único mediador de la anafilaxia, en la mayoría de las especies histamino-sensibles, como ha sido demostrado en el ratón; otro mediador que probablemente juega un papel muy importante en esta hipersensibilidad en ciertas especies (incluyendo al hombre), es la substancia de reacción lenta, la cual fue primero descubierta en la perfusión de pulmones de cuyes sensibilizados con un antígeno alergénico. La substancia es liberada tarde (muchos minutos después del contacto), luego de la aparición de la histamina y causa contracción del músculo liso y posterior relajación; es más potente que la propia histamina y parece que no existe naturalmente en los tejidos y se presume que es formada por la reacción Ag-Ab.

Los sitios en los cuales el complejo Ag-Ab causa anafilaxia pueden ser extra o intravasculares, por ejemplo en la Anafilaxia Cutánea Pasiva en el conejo no tiene período de incubación, porque no es necesario después de la transferencia de los Abs. y el choque puede ser producido por la inyección del Ag, casi inmediatamente después de haber puesto el primer reactivo (Ab). Esto indica que la unión Ag-Ab ocurre intravascularmente, pero no significa que necesariamente que el Ab o el Ag o el complejo de ambos se fije a las células cebadas, entonces es probable que tal fijación ocurra en las plaquetas o en los basófilos, sobre todo porque para efectuar el choque los Abs deben ser fijados de una manera particular, en los receptores para la Fracción cristalizable (Fc), que existen en las mencionadas células.

❖ PROPÓSITO DE LA PRÁCTICA

Como parte importante de la inmunopatología está el grupo de las hipersensibilidades, el choque anafiláctico y las alergias son algunos de estos procesos, demostrando la anafilaxia en un animal de experimentación

❖ CRITERIOS DE DESEMPEÑO

- Serás competente para reconocer los aspectos más importantes en los procesos de hipersensibilidad, choque anafiláctico y alergias.

❖ RESULTADOS ESPERADOS

-El profesional de la materia será competente en reconocer los aspectos más importantes en los procesos de hipersensibilidad.

❖ NORMAS DE SEGURIDAD

- Para evitar quemaduras se deberá utilizar guantes de asbesto, procurando tomar el vaso y no recargar la muñeca o palma de la mano en la base de la platina caliente.

- Manipular con mucho cuidado las parrillas calientes del equipo de Goldsich, para evitar quemaduras

-Las prácticas generales de seguridad estarán basadas en la siguiente normatividad: NOM-061-ZOO-1999, NOM-001-STPS-2008, NOM-002-STPS-2010.

❖ PROGRAMA DE ACTIVIDADES

- El alumno portara la práctica de laboratorio misma que habrá leído previamente, así como la hoja de reporte (Anexo) la que será firmada por el profesor como medida de que ya leyó y entendió, así como verificativo de asistencia.

-Cada alumno tomará su propia nota.

-Los equipos trabajaran en forma coordinada.

-Los resultados y notas de la práctica serán revisados en la siguiente sesión llevando la firma del profesor y fecha, mismos que se anexarán al reporte de la práctica, en caso de no incluirlos la práctica no será válida.

❖ MATERIAL

4 Jeringa y agujas estériles

- 1 Fco. De Solución salina fisiológica
- 1 Conejo previamente sensibilizado (práctica 1)
- 1 Ovoalbúmina
- 1 Antiséptico (alcohol, Benzal, etc.)
- Algodón el necesario

❖ **PROCEDIMIENTO DE LA PRÁCTICA**

Preparar una dilución 1:10 de Ovoalbúmina y aplicarla por vía intracardiaca al conejo sensibilizado con ese antígeno.

Observar los signos que presenta y los tiempos de ocurrencia. Hacer necropsia para conocer las lesiones producidas por el fenómeno anafiláctico.

❖ **PARÁMETROS DE EVALUACIÓN:**

Las habilidades desarrolladas durante la práctica y los conocimientos adquiridos se evaluarán a través del informe de resultados. Además se le cuestionará sobre los contenidos de su reporte. La practica se entregará dos días después de finalizada la actividad de laboratorio realizando las observaciones pertinentes para mejorar la calidad de la misma. Las actitudes se evaluarán a través de la responsabilidad mostrada por el estudiante durante su práctica.

Los valores se presentan a continuación:

Indicadores	%
Asistencia a la practica	10
cuadro comparativo	20
Cuestionario	20
Lista de cotejo	20
Entrega del reporte	30
Total	100

❖ **CUESTIONARIO:**

- 1.- ¿Cuál es el significado etimológico de anafilaxia?
- 2.- ¿En donde se forman los principales mediadores químicos de las reacciones anafilácticas?
- 3.- Describa el papel que desempeñan los eosinófilos en la anafilaxia
- 4.- ¿Cómo podemos inducir la sensibilización activa y pasiva?
- 5.- ¿Cómo se puede lograr la desensibilización?

❖ **LISTA DE COTEJO**

PARÁMETROS	EVALUACIÓN DEL ESTUDIANTE
¿Trajiste impresa la metodología y la hoja de cotejo?	
¿Conoces las principales medidas de manejo para ganado de carne?	
¿Conoces la importancia de un buen manejo para el ganado de carne?	
¿Cuál es el manejo que se realiza el sistema de producción que visitaste?	

❖ **BIBLIOGRAFÍA:**

- Cole, H.H. 1994. Producción animal. Acribia, Zaragoza.
- Johanson, I. y J. Rendel. 2002. Genética y mejora animal. Ed. Acribia, Zaragoza.
- Tagle, E.C. 1980. Bovinotecnia. T 1. Edit. El Ateneo, Bs.As.
www.produccionbovina.com (



**UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

PRÁCTICA No. 5



FIJACIÓN DE COMPLEMENTO

Responsable de la práctica

Mtra. Amalia Cabrera Núñez

Tuxpan; Ver. Junio 2015

Número de profesionales en formación por unidad de práctica (en su caso).- Equipos de 5 integrantes.

❖ INTRODUCCIÓN

La prueba de fijación del complemento se basa en la observación de que éste elemento, constituyente termolábil del suero normal, se combina con el complejo Ag-Ab y se dice que queda fijado, como esta reacción no produce ningún cambio visible es necesario añadir un sistema demostrador (sistema hemolítico), formado por los eritrocitos de carnero y los anticuerpos anti eritrocitos de carnero (hemolisina). Este método suele aplicarse al diagnóstico de sífilis, brucelosis, infecciones por virus (fiebre aftosa, estomatitis vesicular), y rickettsias.

❖ PROPÓSITO DE LA PRÁCTICA

En esta prueba si el complemento (C'), queda fijado por el antígeno (Ag) y el anticuerpo (Ab), complejo infeccioso, ya no se encontrará disponible para la lisis del sistema indicador (Ag, eritrocitos de carnero (SRBC's) y Ab, anticuerpos anti SRBC's), en caso de que en el complejo infeccioso no haya alguno de los reactivos el C' se fijará en el sistema indicador.

❖ CRITERIOS DE DESEMPEÑO

-El alumno será competente al realizar e interpretar las técnicas empleadas para realizar la prueba de fijación del complemento.

❖ RESULTADOS ESPERADOS

El profesional de la materia será competente para identificar los procesos de activación del sistema del complemento, desencadenados por la reacción Ag-Ab (vía clásica), además de observar las funciones biológicas que ocurren en consecuencia. Aplicará este método en el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades en donde se practique.

❖ **NORMAS DE SEGURIDAD**

-Las prácticas generales de seguridad estarán basadas en la siguiente normatividad: NOM-061-ZOO-1999, NOM-001-STPS-2008, NOM-002-STPS-2010.

❖ **PROGRAMA DE ACTIVIDADES**

- El alumno portara la práctica de laboratorio misma que habrá leído previamente, así como la hoja de reporte (Anexo) la que será firmada por el profesor como medida de que ya leyó y entendió, así como verificativo de asistencia.

-Cada alumno tomará su propia nota.

-Los equipos trabajaran en forma coordinada.

-Los resultados y notas de la práctica serán revisados en la siguiente sesión llevando la firma del profesor y fecha, mismos que se anexarán al reporte de la práctica, en caso de no incluirlos la práctica no será válida.

❖ **MATERIAL**

10 tubos de ensaye

10 Pipetas (1, 2, 5, 10 mL)

Suero de conejo sensibilizado con eritrocitos de carnero (hemolisina).

Suspensión de glóbulos rojos de carnero (GR) al 2% (Ag hemolítico)

Solución salina fisiológica (SSF)

Suero normal de cuye (Complemento)

1 Estufa de cultivo a 37°C

1 Centrífuga

❖ **PROCEDIMIENTO DE LA PRÁCTICA**

Colocar en los tubos de ensaye 0.5 mL de la hemolisina diluída a partir de una concentración de 1:1000 en dilución lineal hasta 1:6000, al séptimo colocarle la dilución 1:8000 y la dilución 1:10000 al octavo, mientras que al noveno se le pondrá nuevamente una dilución de 1:1000 y al décimo no se le pone hemolisina. A todos los tubos, menos al noveno, colocarles 0.3 mL de C' en dilución de 1:30. Luego a todos los tubos agregarles 0.5 mL de la suspensión de GR al 2%. Por último a los primeros 8 tubos ponerles 1.7 mL de SSF, mientras que al tubo

noveno 2.0 mL y al décimo 2.2 mL. Se incuba todo a 37°C durante 30 minutos. Se centrifuga a 2000 revoluciones por minuto (rpm) y posteriormente se lee en la hemólisis en la dilución máxima.

PROTOCOLO DE LA DILUCION DE LA HEMOLISINA				
TUBO	HEMOLISINA (0.5 mL) diluciones	COMPLEMENTO (1:30)	GLOBULOS ROJOS DE CARNERO (2%)	SSF
1	1000	0.3 mL	0.5 mL	1.7 mL
2	2000	0.3 mL	0.5 mL	1.7 mL
3	3000	0.3 mL	0.5 mL	1.7 mL
4	4000	0.3 mL	0.5 mL	1.7 mL
5	5000	0.3 mL	0.5 mL	1.7 mL
6	6000	0.3 mL	0.5 mL	1.7 mL
7	8000	0.3 mL	0.5 mL	1.7 mL
8	10000	0.3 mL	0.5 mL	1.7 mL
9	1000	NADA	0.5 mL	1.7 mL
10	NADA	0.3 mL	0.5 mL	1.7 mL

❖ **PARÁMETROS DE EVALUACIÓN:**

Las habilidades desarrolladas durante la práctica y los conocimientos adquiridos se evaluarán a través del informe de resultados. Además se le cuestionará sobre los contenidos de su reporte. La práctica se entregará dos días después de finalizada la actividad de laboratorio realizando las observaciones pertinentes para mejorar la calidad de la misma. Las actitudes se evaluarán a través de la responsabilidad mostrada por el estudiante durante su práctica.

Los valores se presentan a continuación:

Indicadores	%
Asistencia a la practica	10
cuadro comparativo	20
Cuestionario	20
Lista de cotejo	20
Entrega del reporte	30
Total	100

❖ **CUESTIONARIO:**

1. ¿Qué función inmunológica posee el complemento?
2. ¿Qué es una unidad de hemolisina?

3. ¿Qué es una unidad de complemento?

❖ LISTA DE COTEJO

PARAMETROS	EVALUACION DEL ESTUDIANTE
¿Trajiste impresa la metodología y la hoja de cotejo?	
¿Conoces la importancia de los que es el complemento?	
¿Cumpliste con el material y equipo solicitado?	
¿Qué fue que más aprendiste de esta práctica?	

❖ BIBLIOGRAFÍA:

Aurand, L.W., Woods, A.E., Wells, M.R. 1987. Food Composition and Analysis. An AVI Book, New York.

Fennema, O. 1993. Química de alimentos. Acribia, Segunda edición. España.

HarT F. L. 1991. Análisis moderno de los alimentos; Acribia. Zaragoza ,España.

Nielsen S.1998. Food Analysis Second Edition; An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland.



Universidad Veracruzana

**UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

PRÁCTICA No. 6



SEROEPIDEMIOLÓGÍA

Responsable de la práctica

Mtra. Amalia Cabrera Núñez

Tuxpan; Ver. Junio 2015

Número de profesionales en formación por unidad de práctica (en su caso).- Equipos de 5 integrantes.

❖ INTRODUCCIÓN

En 1916 fueron realizados los primeros estudios seroepidemiológicos para detectar individuos reactivos a la sífilis; después en 1930, se establecieron las bases de esta materia con técnicas de seroneutralización o virus-neutralización en animales de laboratorio con agentes infecciosos como: poliomielitis anterior humana, influenza (humana, equina, porcina y aviar), fiebre amarilla y otros. Después de la segunda guerra mundial, en los años 50's, con el auge de los cultivos celulares y técnicas como la de microaglutinación y ahora ELISA, RIA, PCR y el inmuno-blot, se han abatido los costos de procesamiento de muestras y aumentado la capacidad de trabajo de los laboratorios.

En el área de la Medicina Veterinaria, se usó la técnica de Fijación del Complemento (F del C'), para erradicar la durina del territorio de los Estados Unidos, a principios de siglo, y luego en Europa para el control de la peste bovina. En términos generales en la seroepidemiología se encuentran las bases para cualquier programa de control o erradicación de una enfermedad específica.

Los estudios serológicos tienen los siguientes objetivos:

- a. Identificación de los problemas de salud de una población determinada.
- b. Conocer la distribución de una enfermedad en un área específica.
- c. Determinar la frecuencia de presentación (prevalencia e incidencia) de una enfermedad determinada.
- d. Elaboración de programas de vacunación por prioridades.
- e. Evaluar campañas de vacunación.
- f. Conocer la inmunidad del hato.
- g. Llevar a cabo programas de vigilancia epidemiológica.
- h. Detección de los cambios antigénicos (genéticos) de los agentes infecciosos.

Una de las medidas más efectivas en la prevención de las enfermedades con relativa incidencia en la zona, consiste en la inmunización de animales llegando a tener una cobertura vacunal del 100%, y posteriormente lograr la resistencia poblacional con una respuesta superior al 80%, lo que conoceremos como inmunidad de hato, con esto se logra mantener casi libre del agente infeccioso al grupo. Generalmente, las medidas zootécnicas aplicadas a grandes poblaciones, alteran la proporción de animales inmunes/no inmunes, dando con esto lugar a facilidades para la presentación de enfermedades.

Los estudios seroepidemiológicos se hacen de una MUESTRA de la población pues imposible hacerlo sobre ella, luego los resultados pueden ser extrapolables y de lo particular hacer una generalización a la población. Para realizar los muestreos podemos utilizar algunos métodos, por ejemplo:

a).- al azar con o sin reemplazo

b).- al azar sistemático

c).- al azar estratificado

d).- por etapas, en donde primero escogemos el lugar de donde tomaremos las muestras y después la indicaremos al azar.

❖ PROPÓSITO DE LA PRÁCTICA

La epidemiología serológica tiene por objeto de estudio las muestras serológicas (y de otra naturaleza) que permitan conocer la "huella" dejada por un agente infeccioso en ella.

Las primeras muestras séricas fueron examinadas para llevar a cabo pruebas individuales con fines diagnósticos, pero al convertirlas como pruebas masivas y las nuevas técnicas de laboratorio han cambiado el concepto del manejo de los resultados.

❖ CRITERIOS DE DESEMPEÑO

- Serás competente al realizar e interpretar los métodos existentes para identificar la frecuencia y caracterización de una enfermedad en determinada población animal.

❖ RESULTADOS ESPERADOS

-El profesional de la materia será competente en reconocer los principales métodos para identificar la frecuencia y caracterización de una enfermedad determinada.

❖ NORMAS DE SEGURIDAD

-Las prácticas generales de seguridad estarán basadas en la siguiente normatividad: NOM-061-ZOO-1999, NOM-001-STPS-2008, NOM-002-STPS-2010.

❖ PROGRAMA DE ACTIVIDADES

- El alumno portara la práctica de laboratorio misma que habrá leído previamente, así como la hoja de reporte (Anexo) la que será firmada por el profesor como medida de que ya leyó y entendió, así como verificativo de asistencia.

-Cada alumno tomará su propia nota.

-Los equipos trabajaran en forma coordinada.

-Los resultados y notas de la práctica serán revisados en la siguiente sesión llevando la firma del profesor y fecha, mismos que se anexarán al reporte de la práctica, en caso de no incluirlos la práctica no será válida.

❖ MATERIAL

-Animales susceptibles de enfermedad

❖ PROCEDIMIENTO DE LA PRÁCTICA

Los estudios seroepidemiológicos se hacen de una MUESTRA de la población pues imposible hacerlo sobre ella, luego los resultados pueden ser extrapolables y de lo particular hacer una generalización a la población. Para realizar los muestreos podemos utilizar algunos métodos, por ejemplo:

a).- al azar con o sin remplazo

b).- al azar sistemático

c).- al azar estratificado

d).- por etapas, en donde primero escogemos el lugar de donde tomaremos las muestras y después la indicaremos al azar.

Antes de tomar las muestras de la población es necesario determinar la cantidad de individuos que vamos a analizar, a esto se le llama muestra representativa, y para ello debemos tener en cuenta los siguientes puntos:

-conocer un valor estimado de la prevalencia

-Determinar un grado de precisión deseado (0.9, 0.95, 0.99)

-Conocer el tamaño de la población

Teniendo esos datos, los podremos substituir en la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N \cdot Z^2 \cdot p \cdot q}{d^2 (N - 1) + Z^2}$$

de donde:

- n es el tamaño de la muestra
- N es el tamaño de la población
- Z es el valor de tablas de la distribución Normal, según el grado de precisión deseado.
- p es el valor de prevalencia (o probabilidad) de poseer el atributo buscado.
- q es la probabilidad de no tener el atributo buscado = 1 – P
- d es el porciento de desviación (error) permitido en este estudio.

Cuando no conocemos la prevalencia podremos aplicar un criterio de que se encuentra en un 50%, y así aplicarlo a la fórmula.

Una prueba serológica debe ser: simple, económica, sensible, específica, precisa, exacta y rápida.

Para evaluar una prueba serológica u otra prueba de laboratorio, debemos hacerlo contra otra prueba que nos indique la máxima certidumbre, como lo son las pruebas de aislamiento o las lesiones patognomónicas de los cadáveres; así en base a la sensibilidad (capacidad de la prueba para detectar como POSITIVOS a los enfermos), y especificidad (capacidad de la prueba para detectar como negativos a los individuos sanos). Ya existen valores de sensibilidad y especificidad para muchas pruebas de laboratorio, con ellas se pueden determinar los valores más exactos de la reactividad de los animales.

Para ello emplearemos una tabla de contingencia de 2 x 2 y se analizará por el método de proporciones, aunque podemos emplear métodos estadísticos como el de la X² (ji-cuadrada).

		DIAGNÓSTICO VERDADERO		TOTAL	
		+	-		
RESULTADO DE LA PRUEBA	+	a	b	a + b	
	-	c	d	c + d	
TOTAL		a + c	b + d	a + b + c + d = N	

De donde:

- a = animales enfermos positivos, a la prueba
- b = animales sanos, positivos a la prueba (falsos positivos)
- c = animales enfermos, negativos a la prueba (falsos negativos)
- d = animales sanos, negativos a la prueba

- (a + c) = animales enfermos
- (b + d) = animales sanos
- (a + b) = animales positivos a la prueba

$(c + d) =$ animales negativos a la prueba
 $a + b + c + d = N =$ Total de animales participantes

Prevalencia real = $a + c / N$

Prevalencia real = $a + c / N$

Prevalencia aparente = $a + b / N$

Porcentaje de falsos positivos = $b / a + b$

Porcentaje de falsos negativos = $c / c + d$

Sensibilidad = $a / a + c$; de donde: $a = (a + c)$ Sensibilidad

Especificidad = $d / b + d$; de donde: $d = (b + d)$ Especificidad

Se debe tomar en cuenta que estos criterios pueden variar al modificarse las concentraciones de los reactores (antígeno o anticuerpo), la temperatura, el pH, y la manera de interpretar los resultados (nivel de corte, criterio).

Requeriremos de una ALTA sensibilidad de la prueba, cuando:

- a).- No se va a realizar una segunda prueba
- b).- Se debe identificar individualmente a cada miembro del grupo,
- c).- La prevalencia sea muy baja.
- d).- Termina un programa de erradicación

Requeriremos de una ALTA especificidad de la prueba, cuando:

- 1).- Inicia un programa de detección temprana.
- 2).- Debemos tratar a los reactores (positivos), y el número de tratamientos es limitado.
- 3).- Hay factores sociales que influyen en los resultados, como en las Enfermedades de transmisión sexual.
- 4).- Al término de un programa de erradicación.

❖ PARÁMETROS DE EVALUACIÓN:

Las habilidades desarrolladas durante la práctica y los conocimientos adquiridos se evaluarán a través del informe de resultados. Además se le cuestionará sobre los contenidos de su reporte. La práctica se entregará dos días después de finalizada la actividad de laboratorio realizando las observaciones pertinentes para mejorar la calidad de la misma. Las actitudes se evaluarán a través de la responsabilidad mostrada por el estudiante durante su práctica.

Los valores se presentan a continuación:

Indicadores	%
Asistencia a la práctica	10
cuadro comparativo	20
Cuestionario	20
Lista de cotejo	20
Entrega del reporte	30
Total	100

❖ **CUESTIONARIO:**

¿Qué entiendes como epidemiología sérica?

¿Qué entiendes de prevalencia real?

¿Qué es la prevalencia aparente?

❖ **LISTA DE COTEJO**

PARAMETROS	EVALUACION DEL ESTUDIANTE
¿Trajiste impresa la metodología y la hoja de cotejo?	
¿Elaboraste el cuadro comparativo de los tipos de prevalencia real y aparente?	
¿Conoces la importancia de una muestra representativa?	

❖ **BIBLIOGRAFIA:**

-Barret, J.T. Inmunología 1a. Ed. 2000. Editorial Interamericana. Mexico Pp. 208-209

-Benacerraf, B. Celular Immunity In General Immuno-Pathology. Feb. 3-May 30. 1999. Harvard Medical School. Pp. 37-41

-Gordon, B.L. Lo Esencial De La Inmunología. 2a. Ed. 2001. Editorial "El Manual Moderno" México. Pp. 172-186

ANEXOS

HOJA DE REPORTE

Núm.	Nombre de la práctica	Fecha	Firma del docente	Observaciones
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				