

1996/2002

093614631

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



MANUAL DE PRACTICAS DE INMUNOBIOLOGIA

PRODUCCION DE MATERIALES EDUCATIVOS
OPCION PAQUETE DIDACTICO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGIA

PRESENTA :

REYNA AYDE HERRERA HERNANDEZ

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO, JUNIO 2002.

186665/022214
412220/509981
B341/1478
B341/1478



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA



CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE CARRERA DE LA LICENCIATURA EN BIOLÓGIA
COMITÉ DE TITULACION

**C. REYNA AYDÉ HERRERA HERNÁNDEZ
P R E S E N T E .**

Manifestamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de **Producción de Materiales Educativos, opción Paquete Didáctico** con el título **"MANUAL DE PRÁCTICAS DE INMUNOBIOLOGÍA"**, para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptada como Directora de dicho trabajo la **DRA. GALINA PETROVNA ZAITSEVA** y como asesor el **Q.F.B. ADOLFO CÁRDENAS ORTEGA**.

ATENTAMENTE

"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Zapopan, Jal., 17 de abril del 2002

**DRA. MÓNICA ELIZABETH RIVERA LÓPEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE
LICENCIADO EN BIOLÓGIA

Leticia Hernández López
**M.C. LETICIA HERNÁNDEZ LÓPEZ
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

c.c.p. **DRA. GALINA PETROVNA ZAITSEVA**. - Directora del Trabajo
c.c.p. **Q.F.B. ADOLFO CÁRDENAS ORTEGA**.-Asesor del Trabajo
c.c.p. Expediente del alumno

MERL/LHL/mam

C. DRA. MONICA ELIZABETH RIOJAS LOPEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACION
DE LA DIVISI3N DE CIENCIAS BIOL3GICAS Y AMBIENTALES
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
PRESENTE.

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de titulaci3n PRODUCCI3N DE MATERIALES EDUCATIVOS OPCION PAQUETE DIDACTICO que realiz3 la pasante: REYNA AYDE HERRERA HERNANDEZ con el t3tulo: MANUAL DE PRACTICAS DE INMUNOBIOLOGIA, consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideraci3n el escrito final para autorizaci3n de impresi3n y en su caso programaci3n de fecha de examen respectivo.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atenci3n que se sirva brindar a la presente y aprovechamos la ocasi3n para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"
LAS AGUJAS, NEXTIPAC, ZAPOPAN, JALISCO, JUNIO 06, 2002.

EL DIRECTOR DEL TRABAJO

EL ASESOR


DRA. GALINA P. ZAITSEVA
NOMBRE Y FIRMA



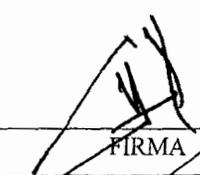
COORDINACION DE LA CARRERA DE
LICENCIADO EN EDUCACION


O.E.B. ADOLFO CARDENAS ORTEGA
NOMBRE Y FIRMA

SINODALES

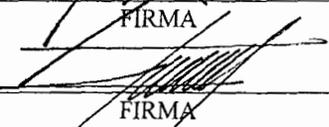
1.- DR. ALFONSO E. ISLAS RODRIGUEZ

NOMBRE COMPLETO


FIRMA

2.- M. EN C. EDUARDO VAZQUEZ VALLS

NOMBRE COMPLETO


FIRMA

3.- MARIA LUISA PITA LOPEZ

NOMBRE COMPLETO


FIRMA

PRESENTACIÓN

Este manual de prácticas surge con el propósito de responder de forma eficiente al proceso de conocimiento adquirido en el salón de clases y su asimilación con un refuerzo práctico de manera que el estudiante se desarrolle en el contexto de excelencia académica de la universidad, e incrementar su desarrollo educativo y de investigación.

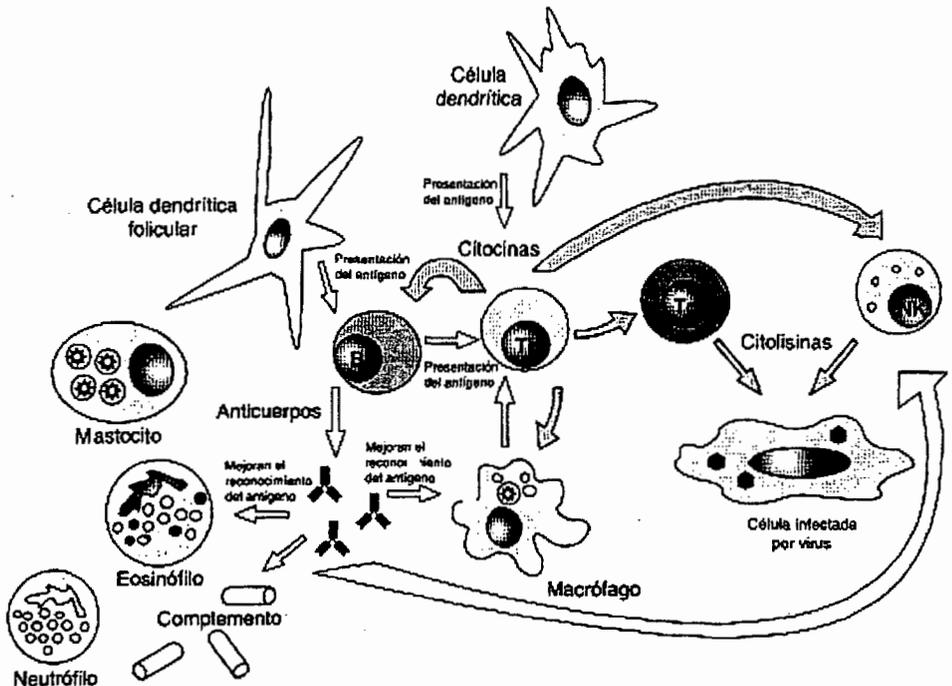
La materia de Inmunobiología es una asignatura básica particular selectiva, teórica-práctica con gran importancia en la formación del biólogo en el ámbito de Biología Celular y Molecular aplicada y que tiene como objetivo iniciar al alumno en el camino de la especialización en el campo de Biología Experimental, así como proporcionar el conocimiento de la inmunidad como función fundamental de los seres vivos y la importancia del enfoque evolutivo en el estudio del sistema inmune, así como la morfología y fisiología de los componentes de la respuesta inmune.

Hasta la fecha no se contaba con un Manual de Prácticas de Inmunobiología estructurado, aunque se realizan ocho prácticas por semestre; en la elaboración de este manual se han tratado de reunir los elementos necesarios para el desarrollo del estudiante y facilitar el proceso de aprendizaje de esta materia.

A continuación se presenta el Manual de Prácticas de Inmunobiología elaborado, que permite la Titulación de la Estudiante de Biología: Reyna Ayde Herrera Hernández, por la modalidad: Producción de materiales educativos: Paquete Didáctico en la opción de Manual de Prácticas.



Manual de Inmunobiología



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	4
REGLAMENTO DEL LABORATORIO.....	5
GUÍA DE USO DEL MANUAL.....	6
DESARROLLO DE PRÁCTICAS	
I. ANATOMÍA COMPARADA DE LOS ORGANOS DEL SISTEMA INMUNE DE VERTEBRADOS.....	7
II. HISTOLOGÍA DE TEJIDO LINFOIDE DE MAMÍFEROS.....	12
III. CÉLULAS SANGUÍNEAS.....	16
IV. FAGOCITOSIS.....	21
V. GRUPOS SANGUÍNEOS ABO Y FACTOR Rh.....	27
VI. DETERMINACIÓN DE ANTIESTREPTOLISINAS.....	32
VII. FACTOR REUMATOIDE.....	36
VIII. PRUEBAS CUTÁNEAS DE HIPERSENSIBILIDAD TIPO I Y IV.....	41

INTRODUCCIÓN

Este manual de Inmunobiología se realizó con el propósito de reforzar con la práctica el conocimiento generado en las aulas e incrementar el desarrollo educativo y de investigación del alumno.

Debido a que es de gran importancia en la formación del biólogo el conocimiento de la inmunidad como función fundamental de los seres vivos, así como la morfología y fisiología de los componentes de la respuesta inmune con enfoque evolutivo, porque a través de la evolución los seres vivos han desarrollado sistemas adaptativos que les permiten interactuar con el medio ya que el sistema inmune ha evolucionado para protegernos frente a los agentes agresores. Es así como este manual de forma general pero ilustrativa pretende darle al estudiante las herramientas necesarias para su desarrollo educativo y de investigación.

REGLAMENTO DEL LABORATORIO

1. Se permitirá un máximo de 15 minutos después de la hora de entrada para tener acceso al laboratorio.
2. Es obligatorio el uso de bata blanca.
3. El alumno deberá de respetar las disposiciones del profesor, de no ser así, el profesor tiene la autoridad para suspender la práctica.
4. No se permite introducir alimentos ni consumirlos en el laboratorio.
5. Esta prohibido fumar en el laboratorio.
6. El alumno no podrá abandonar el laboratorio sin el permiso del profesor, de hacerlo así, tendrá falta en la práctica.
7. No se permite colocar ropa, libros o bolsas sobre las mesas de trabajo, excepto el manual de prácticas o el cuaderno de notas.
8. Se prohíbe arrojar materiales sólidos a las tarjas (papel, algodón, hojas de plantas, cubreobjeto, etc).
9. Durante el desarrollo de la práctica debe evitarse el contacto de las manos o de cualquier objeto con la boca, nariz u oídos.
10. Cada equipo debe limpiar y desinfectar su área de trabajo antes de iniciar la práctica y al final de la misma. Es necesario lavarse las manos antes de salir del laboratorio.
11. El alumno debe asegurarse de que las llaves de gas, agua y aire queden perfectamente cerradas antes de salir del laboratorio.
12. Todo material de cristalería que se rompa, deberá ser reemplazado por el equipo de trabajo o alumno responsable, así como de cualquier tipo de material faltante al termino de la práctica.
13. El alumno debe contar con el calendario de prácticas.
14. El alumno debe disponer previamente del programa de prácticas, por lo cual deberá conocer el procedimiento de la práctica antes de ingresar al laboratorio.
15. Los reportes de cada práctica deben ser presentados en forma individual de acuerdo con las indicaciones particulares del profesor y deberán incluir:
 - Resultados.
 - Dibujos.
 - Discusión.
 - Bibliografía. (adicional a la propuesta en cada práctica).
16. Solo se calificarán los reportes de práctica cuando el alumno cuente con la respectiva asistencia al laboratorio.

GUÍA DE USO PARA EL MANUAL DE PRÁCTICAS

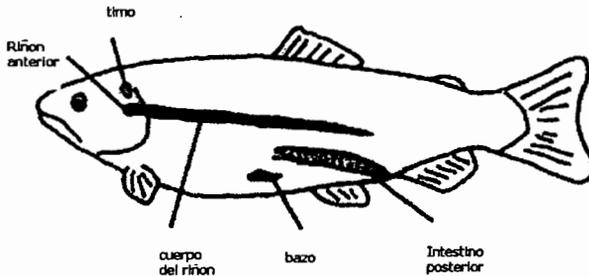
Las Instrucciones son claras y precisas y permiten al estudiante trabajar de forma adecuada. Se espera que el alumno pueda utilizar el Manual como cuaderno de trabajo, respondiendo preguntas y anotando resultados y observaciones. Antes de iniciar la práctica deberá leerla cuidadosamente, si surgiera alguna duda consultar al instructor. Es conveniente leer la introducción de cada práctica y si lo requiere complementarla con las referencias mencionadas al final.

Cada práctica está organizada de la siguiente forma:

1. **INTRODUCCIÓN:** En la cual se revisan aspectos básicos del tema.
2. **ANTECEDENTES:** De forma específica se explica de forma breve conceptos básicos de la práctica que se va a realizar.
3. **JUSTIFICACIÓN:** En donde se indica la importancia de la realización de la práctica.
4. **OBJETIVOS:** Se especifica el fin que plantea cada práctica.
5. **MATERIAL:** Se describe cuál es el material biológico, soluciones y reactivos que se necesitan para realizar el proceso experimental.
6. **METODOLOGÍA:** Se describe el procedimiento paso a paso, para la realización y desarrollo de la práctica.
7. **RESULTADOS:** El estudiante observará y registrará la información obtenida.
8. **DISCUSIÓN:** Se presenta como una serie de preguntas, que el alumno deberá contestar como resultado de las observaciones que realizó durante el proceso de la práctica, así como de la investigación bibliográfica realizada.
9. **CONCLUSIONES:** El estudiante reportará el conocimiento obtenido de la realización de la práctica, y de su investigación bibliográfica realizada.
10. **EVALUACIÓN:** El profesor anotará las observaciones necesarias.
11. **BIBLIOGRAFÍA:** En donde se le sugiere al alumno una serie de citas bibliográficas.

Nombre _____
Grupo _____
Fecha _____

PRÁCTICA I ANATOMÍA COMPARADA DE LOS ÓRGANOS DEL SISTEMA INMUNE DE VERTEBRADOS



INTRODUCCIÓN

El conocimiento del sistema inmune en animales domésticos y salvajes es relativamente reciente, el desarrollo de la inmunobiología moderna es una historia basada principalmente en la relación “ratón y hombre” pero a lo largo de la historia otras especies han jugado un papel crucial para entender las características funcionales y estructurales del sistema inmune, por ejemplo: el conejo ha contribuido para los estudios de la respuesta inmune humoral, las ovejas como modelos para el estudio del tráfico de linfocitos y las aves han contribuido para el entendimiento del linaje de linfocitos y diferenciación de células B en la Bursa de Fabricio.

A lo largo de la evolución, los organismos han adquirido alguna forma para defenderse. En los metazoos más primitivos (esponjas, celenterados, platelmintos) la inmunidad se ejerce a través de los amebocitos fagocíticos, los invertebrados celomados (moluscos, artrópodos, equinodermos) muestran mecanismos de defensa muy eficaces, además de tener las células fagocíticas, poseen células de tipo Natural Killer y sus líquidos corporales contienen factores humorales de la respuesta inmune (aglutininas, lisinas, moléculas similares a algunos componentes del complemento). Sin embargo, **los invertebrados no cuentan con un sistema inmune conformado por los órganos linfoides especializados, su nivel de la inmunidad es inespecífico.**

ANTECEDENTES

Los vertebrados responden a un sistema básico de organización bastante uniforme y se encuadran dentro de un tipo único, los cordados. **La inmunidad de los vertebrados se caracteriza por un alto grado de especificidad**, el estudio detallado de diversos vertebrados muestra un avance evolutivo que conduce al sofisticado sistema inmune de los mamíferos. Los **peces** son los vertebrados inferiores, en los cuales comienzan a notarse los siguientes órganos linfoides: **Un esbozo de timo, riñón anterior, bazo e hígado**; los **anfibios** cuentan con **timo** (todavía un órgano par), **aparecen** poco desarrollados **amígdalas y médula ósea**, se ven más estructurados **el bazo e hígado**; en **reptiles** se observa **timo** (ya es un órgano impar bilobular), **amígdalas, bazo, hígado, médula ósea** y **aparecen los ganglios linfáticos** (en esbozos); en **aves** hay **timo, amígdalas, bazo, hígado, ganglios linfáticos, médula ósea** y una estructura linfoide con el nombre de **Bolsa de Fabricio**. Por último, en **mamíferos** se puede observar todo el repertorio de los órganos linfoides bien definidos, tales como: **timo, amígdalas, bazo, hígado, médula ósea, ganglios linfáticos** y equivalente de la bolsa de Fabricio a la par con la médula ósea – **apéndice** (excepto roedores) y **placas de Peyer**.

JUSTIFICACIÓN

El estudio de la evolución del sistema inmune es indispensable en la comprensión de los mecanismos de la respuesta inmune a los diferentes estímulos externos e internos y así mantener el homeostasis del organismo a diferente nivel de complejidad; por lo que es importante realizar la enseñanza práctica, donde el estudiante de una manera ilustrativa identifique y realice comparaciones de la anatomía de los órganos linfoides del sistema inmune de los vertebrados seleccionados para la práctica.

OBJETIVO

1. Observar los órganos linfoides de los animales representantes de las cinco clases de vertebrados: Pez, anfibio, reptil, ave y mamífero, con la finalidad de comparar la conformación del sistema inmune de diferentes vertebrados.

MATERIAL BIOLÓGICO

SOLUCIONES Y REACTIVOS

1. Un pez (bagre).
2. Un anfibio (sapo).
3. Un réptil (lagartija).
4. Un ave (pollo).
5. Un mamífero (ratón y/o rata.)
6. Un invertebrado (lombriz de tierra y/o camarón)

1. Éter.
2. Colorante Wright

MATERIAL

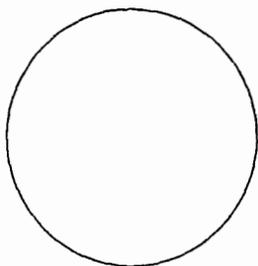
1. Estuche de disección.
2. Una charola de metal.
3. Una navaja de afeitar.
4. Un frasco con tapadera.
5. Cinta adhesiva y/o alfileres.
6. Una tabla de hielo seco.
7. Porta y cubreobjetos.

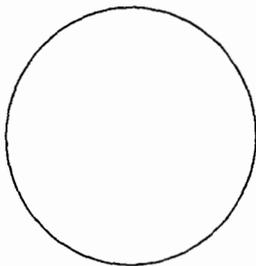
METODOLOGÍA

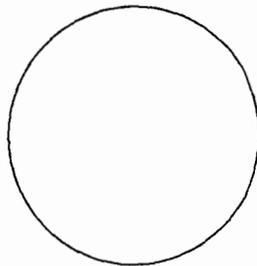
1. Sacrificar al animal (sapo, lagartija, pollo y ratón) y colocarlo en un frasco con algodón impregnado de éter, tapando el frasco el tiempo necesario.
2. Retirar el algodón impregnado de éter en una bolsa impermeable (**El éter es tóxico**).
3. Colocar al animal boca arriba en una charola o encima de una tabla de hielo seco y fijarlo de sus extremidades con alfileres y/o cinta adhesiva, si es necesario rasurar la parte ventral de animal (en el caso de ave y mamífero).
4. Realizar la disección haciendo una incisión hacia arriba y hacia abajo, abriendo la cavidad torácica y abdominal.
5. Localizar y observar el timo, bazo, hígado, médula ósea, riñón anterior y bolsa de Fabricio.
6. Tomar una muestra de sangre del corazón para realizar un frote sanguíneo de cada animal y teñir con colorante Wright.(para su uso en la práctica posterior).
7. Confirmar la ausencia de los órganos linfoides en los invertebrados a través de su disección.

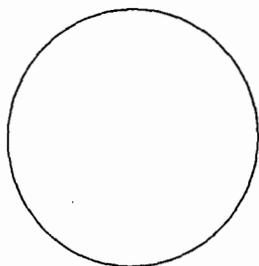
RESULTADOS

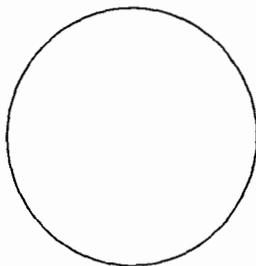
Realizar los dibujos y/o anotaciones correspondientes.

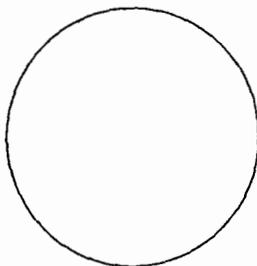












DISCUSIÓN

1. ¿Qué clase de vertebrados tienen bolsa de Fabricio?
2. De acuerdo a la escala evolutiva indicar ¿en qué clase de vertebrados aparecieron las amígdalas?
3. ¿En dónde se encuentran localizadas las placas de Peyer?
4. ¿Qué tipo de inmunidad presentan los invertebrados?

CONCLUSIONES

EVALUACIÓN

BIBLIOGRAFÍA

1. **Pierre Paul et al** (1996). Handbook of vertebrate Immunology, Academic Press, California.
2. **Roitt, Brostoff and Male** (1997). Inmunología, Cuarta edición, Harcourt Brace, España.

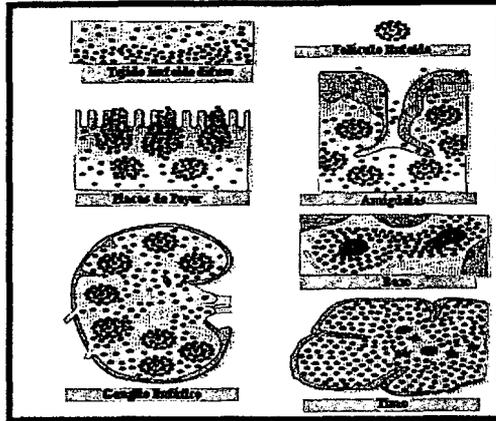
Nombre _____

Grupo _____

Fecha _____

PRÁCTICA II

HISTOLOGÍA DE TEJIDO LINFOIDE DE MAMÍFEROS



INTRODUCCIÓN

Las células que participan en la respuesta inmune se encuentran organizadas formando tejido linfoide en diferentes órganos con el objeto de llevar a cabo sus funciones con la máxima eficacia.

Hay tres tipos de tejido linfático: El laxo, donde predominan las células libres (linfocitos y otros leucocitos); el denso, en el cual predomina una red de células fijas; y el nodular, que muestra también el predominio de células libres pero que forman estructuras esféricas típicas en forma de nódulo o folículo.

Los **aparatos respiratorio y digestivo** están protegidos inmunológicamente por **acumulaciones subepiteliales de tejido linfoide**, estas pueden presentarse como agrupaciones difusas de linfocitos, plasmocitos y fagocitos, sobre todo como infiltración de la lámina propia de las membranas mucosas, o como un tejido más claramente organizado con folículos bien formados que se observan en amígdalas, placas de Peyer y apéndice. Varios órganos y estructuras del cuerpo están formados principalmente por tejido linfoide (timo, bazo, ganglios linfáticos), que no es uno de los tejidos básicos sino solo una variedad del tejido conectivo.

Los tejidos linfoides y reticuloendotelial están compuestos primordialmente por una malla de células reticulares asociadas a los vasos linfáticos, existen dos componentes principales: El tejido reticular, que

comprende un almacén de células y fibras reticulares, y las células libres, sobre todo linfocitos, que se encuentran en los intersticios del tejido reticular.

ANTECEDENTES

Los órganos linfoides que componen el sistema inmune en los vertebrados se dividen en dos: **Órganos linfoides primarios**, tales como **médula ósea e hígado** (en etapa embrionaria y en los animales que carecen de médula ósea), donde las células sanguíneas incluyendo las inmunocompetentes se originan (**tejido hematopoyético**), así como **timo** y **bolsa de Fabricio** donde se diferencian y se proliferan los linfocitos T y B respectivamente .

Los **órganos linfoides secundarios** son: **Bazo, ganglios linfáticos, amígdalas, placas de Peyer y apéndice, folículos linfáticos del tejido linfoide asociado a las mucosas**, donde los linfocitos proliferan y se diferencian con estímulo antigénico específico.

El **timo** posee dos lóbulos rodeados por una cápsula de tejido conjuntivo denso, la cual da origen a tabiques incompletos que dividen el parénquima tímico en lobulillos, donde se ve claramente la división entre la parte externa (**corteza**) más oscura con gran índice de proliferación y la parte interna (**médula**) que se ve más clara y con inclusiones del tejido epitelial más notorio, así mismo en la zona medular se ven los corpúsculos de Hassal.

Los **ganglios linfáticos** son órganos encapsulados constituidos por tejido linfoide que aparecen siempre en el trayecto de los vasos linfáticos, su zona cortical esta constituida por tejido linfoide laxo en forma de **folículos con los centros germinales**, la zona medular por linfoide denso al igual que la zona paracortical. Las **amígdalas** (palatinas y faríngeas) están cubiertas por tejido **epitelial estratificado no queratinizado** y están formadas por los folículos linfoides.

El **bazo** posee una cápsula de tejido conjuntivo denso con trabéculas que dividen el parénquima o pulpa esplénica, la cual tiene dos tipos: **Pulpa roja** con el predominio de eritrocitos y **pulpa blanca** con el predominio de linfocitos T o B dependiendo de la zona.

JUSTIFICACIÓN

El estudio de la estructura histológica del tejido linfoide es importante para la comprensión de la composición del sistema inmune en los vertebrados, es conveniente introducir al estudiante a la observación de diferentes órganos que contienen el tejido linfoide de varios tipos para completar el proceso de enseñanza-aprendizaje.

OBJETIVO

1. Conocer el tejido linfoide a través de la observación al microscopio de las placas que contienen cortes de los diferentes órganos: timo, bazo,

ganglios linfáticos, folículos linfáticos asociados a las mucosas del tracto digestivo (esófago e intestino grueso y delgado) y apéndice.

MATERIAL

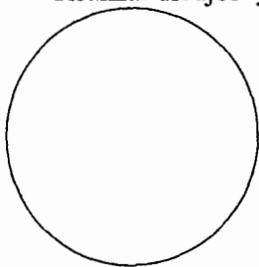
1. Microscopio compuesto.
2. Placas con cortes histológicos de amígdalas, hígado, bazo, ganglios linfáticos, timo, médula ósea, apéndice, intestino grueso y delgado.
3. Aceite de inmersión.

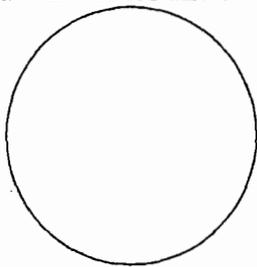
METODOLOGÍA

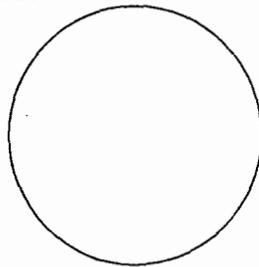
1. Tomar las placas con los cortes histológicos y posteriormente observarlas al microscopio con diferente aumento iniciando el uso del objetivo 10X, 40X y de 100X (éste último con el aceite de inmersión).
2. Identificar diferentes órganos linfoides basándose en la observación de tejidos.

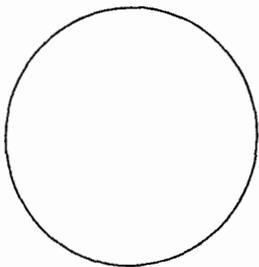
RESULTADOS

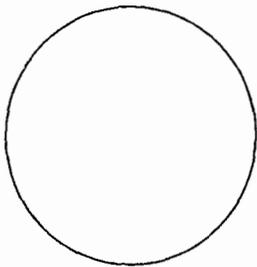
Realizar dibujos y anotaciones de los diferentes tejidos observados.

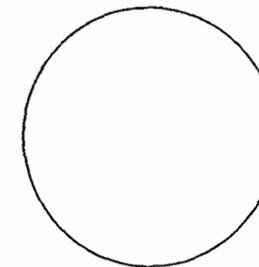


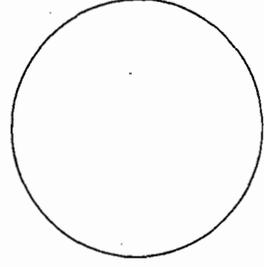
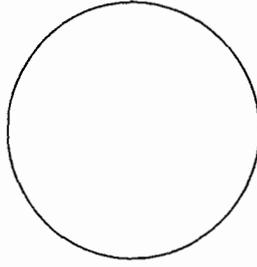
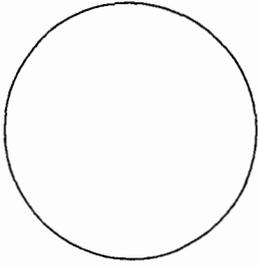












DISCUSIÓN

1. ¿ Cómo se clasifican los órganos linfoides?
2. ¿Cuál es el origen embrionario del timo?
3. ¿ En qué órgano es más notable la linfoproliferación?

CONCLUSIONES

EVALUACIÓN

BIBLIOGRAFÍA

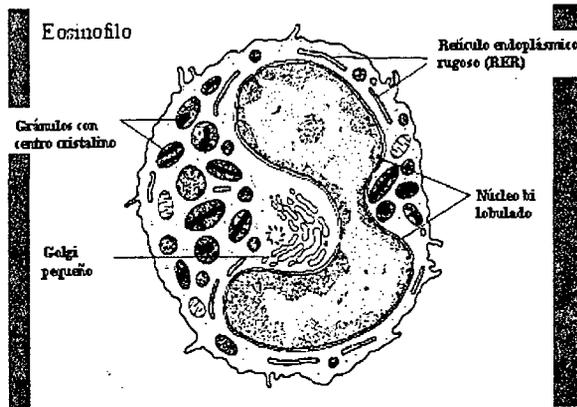
1. **Leeson, Leeson y Paparo** (1990). Texto / Atlas de Histología. Ed. Interamericana McGraw-Hill, México.
2. **Roitt, Brostoff and Male** (1997). Inmunología, Cuarta edición, Harcourt Brace, España.
3. **Smith y Wood** (1998). Biología Celular, Ed. Addison Wesley, México.
4. **Stites, Terr, Abba and Parslow** .(1996). Inmunología Básica y Clínica, Octava Edición, Manual Moderno, México.

Nombre _____

Grupo _____

Fecha _____

PRÁCTICA III CÉLULAS SANGUÍNEAS



INTRODUCCIÓN

La sangre consta de elementos formes o células sanguíneas y una sustancia intercelular líquida, el plasma sanguíneo. La sangre es un tejido circulante que integra una región del cuerpo con otra, durante toda la vida está en circulación continua a través de bombeo del corazón.

Las células sanguíneas reciben su nombre según el aspecto en estado fresco y sin teñir: los glóbulos rojos (eritrocitos), los glóbulos blancos (leucocitos) y las plaquetas. El plasma es una solución acuosa que contiene componentes de pequeño y gran peso molecular, que corresponden al 10 % de su volumen. Las proteínas plasmáticas (incluyendo fibrinógeno e inmunoglobulinas) corresponden al 7%, las sales inorgánicas al 0.9% y el resto esta formado por diversos compuestos, como aminoácidos, vitaminas, hormonas y lipoproteínas.

ANTECEDENTES

Los leucocitos se clasifican en dos grupos: Los granulocitos o polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y agranulocitos (linfocitos y monocitos).

CÉLULAS SANGUÍNEAS en 1 ml de sangre de un adulto normal

Eritrocitos	4.5 – 5.5 millones
Leucocitos	6,000 – 10,000
Plaquetas	200,000 – 400,000
Neutrófilos	50 – 60 % (en niños 30 – 40 %)
Eosinófilos	3 – 5 %
Basófilos	0 – 1 %
Linfocitos	30 – 40 % (en niños 50 – 60 %)
Monocitos	3 – 5 %

JUSTIFICACIÓN

La sangre actúa como un medio de transporte que lleva a las células las sustancias esenciales para sus procesos vitales, su estudio es importante, ya que en las alteraciones hematológicas las células no pueden cumplir con su función primordial por otra parte la morfología, número y proporciones de los diferentes tipos celulares son indicadores de cambios patológicos en el cuerpo, de tal manera el conocimiento de las células sanguíneas de diferentes vertebrados proporciona al alumno el medio para comprender mejor la evolución. La preparación del frote sanguíneo teñido proporciona habilidades en las técnicas básicas de Inmunología.

OBJETIVO

1. Identificar las células sanguíneas en los frote realizados en la practica N° 1 y en la actual..

MATERIAL BIOLÓGICO

1. Una gota de sangre .

SOLUCIONES Y REACTIVOS

1. Colorante Wright.
2. Buffer de Wright.
3. Agua Destilada.
4. Alcohol etílico al 70%

MATERIAL

1. Un Microscopio.
2. Portaobjetos.
3. Lancetas.
4. Aceite de inmersión.

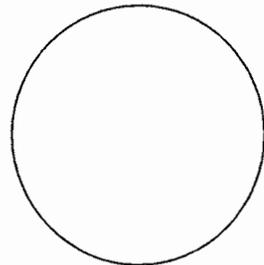
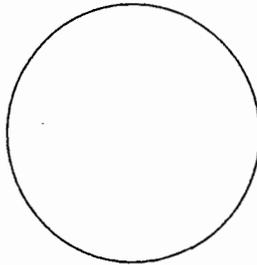
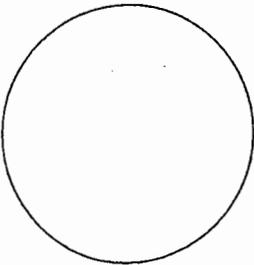
METODOLOGÍA

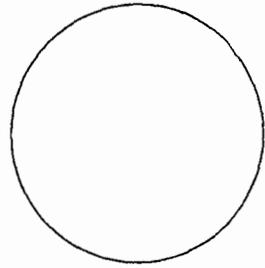
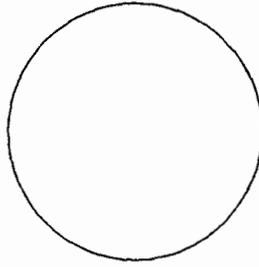
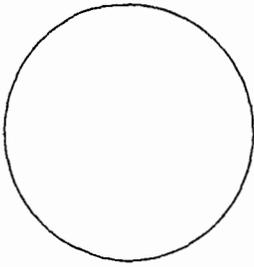
Para estudiar los elementos celulares de la sangre se procede de la siguiente manera:

1. Desengrasar los portaobjetos con el alcohol.
2. Obtener la gota de sangre por punción con una lanceta de la parte lateral interna del dedo de la mano izquierda.
3. Colocar sobre un portaobjetos en una esquina la gota de sangre obtenida.
4. Extender la gota de sangre con ayuda de otro portaobjetos en ángulo de 45 grados sobre el primero .
5. Secar la frote obtenido a la temperatura de medio.
6. Cubrir el portaobjetos con colorante Wright y esperar 10 minutos.
7. Cubrir en seguida el portaobjetos con el frote por el buffer Wright durante 10 minutos.
8. Inmediatamente después enjuagar con el agua destilada colocándola lentamente por un lado de portaobjetos y dejar secar.
9. Observar al microscopio el frote teñido con el objetivo 100x y aceite de inmersión.

RESULTADOS

Realizar dibujos de las células observadas en el frote sanguíneo de los diferentes vertebrados y hacer anotaciones de sus características principales, así como reportar el porcentaje de diferente tipo de células leucocitarias contadas en el frote sanguíneo humano.





CONTEO DIFERENCIAL		
CÉLULAS	Nº	%
Neutrófilos		
Eosinófilos		
Basófilos		
Monocitos		
Linfocitos		

DISCUSIÓN

1. ¿ Porque los neutrófilos , eosinófilos y basófilos tienen el nombre de granulocitos?
2. ¿ Qué es la fórmula leucocitaria?
3. ¿ Qué diferencia hay entre el plasma y el suero?
4. ¿ Qué clase de vertebrados tienen eritrocitos sin núcleo?

CONCLUSIONES

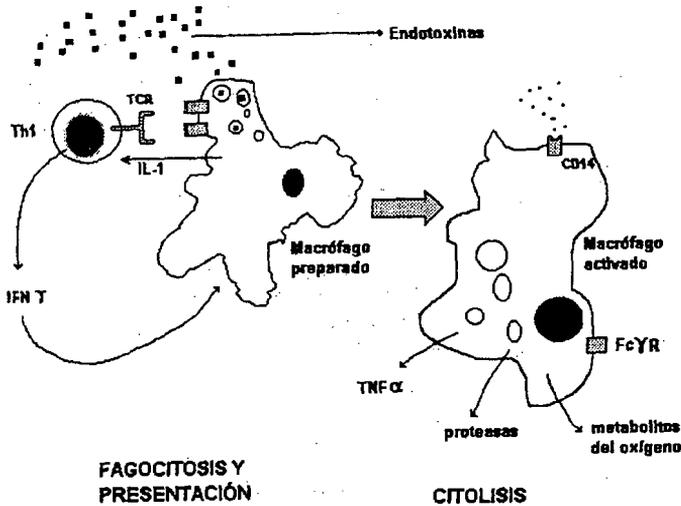
EVALUACIÓN

BIBLIOGRAFÍA

1. **Junqueira&Carneiro** (1996). Histología Básica, Cuarta Edición. Ed. Masson, México.
2. **Leeson, Leeson y Paparo** (1990). Texto/ atlas de Histología. Ed. Interamericana Mcgraw-Hill, México.
3. **Stites, Terr, Abba and Parslow** (1996).Inmunología Básica y Clínica, Octava Edición, Manual Moderno, México.

Nombre _____
Grupo _____
Fecha _____

PRÁCTICA IV FAGOCITOSIS



INTRODUCCIÓN

La palabra fagocitosis proviene del griego – phagos(el que come) y- citos (célula). En 1884 Iliya Metchnikoff postuló por primera vez que las células ameboides fagocíticas en los invertebrados como la estrella del mar constituían un elemento esencial de las defensas del organismo, este elemento en la actualidad se denomina inmunidad celular inespecífica. Si los microorganismos entran a un organismo, al inicio intervienen dos mecanismos defensivos principales, el efecto destructor de factores químicos solubles como las enzimas bactericidas o complemento y la fagocitosis. La célula puede introducir el material de interés por dos procesos: endocitosis y fagocitosis, en el último la célula internaliza grandes complejos macromoleculares como bacterias, las cuales son envueltas por evaginaciones de membrana que forman una vesícula de gran tamaño llamado fagosoma.

ANTECEDENTES

Una vez que los microorganismos abren una brecha en los mecanismos de defensa local, numerosos eventos inmunológicos estrechamente integrados son puestos en juego, relacionados de manera predominante con la actividad de 2 tipos de fagocitos.

Los neutrófilos polimorfonucleares están relacionados principalmente con la destrucción de los microorganismos que tratan de evadir la fagocitosis para sobrevivir, una vez ingeridos dichos microorganismos por lo general parecen, los fagocitos mononucleares o macrófagos están relacionados principalmente con el control de microorganismos capaces de sobrevivir a la residencia intracelular y contra los cuales los neutrófilos resultan ineficaces; las principales células efectoras son los macrófagos, los cuales pueden servir como un sistema de resguardo para los neutrófilos en las infecciones agudas, pero fagocitan con menor eficiencia y carecen de muchos de los potentes bactericidas del neutrófilo; los macrófagos son mucho más importantes en las infecciones crónicas.

La ingestión y digestión de células vivas por los fagocitos ocurre en varias fases independientes: quimiotaxis o atracción, fijación u opsonización, englobamiento o ingestión, muerte intracelular y digestión.

JUSTIFICACIÓN

Conocer los procesos que determinan el paso de sustancias a través de la membrana celular ayuda a comprender muchos de los fenómenos que se dan en los sistemas vivos. Las células fagocíticas se unen a los microorganismos los ingieren y destruyen, los sistemas de reconocimiento que utilizan son relativamente primitivos y carentes de especificidad, los **fagocitos** son mediadores de **respuesta inmune innata**, su misión es formar una primera línea de defensa frente a la infección. La práctica de fagocitosis proporciona al alumno la habilidad del manejo de una técnica básica en Inmunología.

OBJETIVOS

1. Determinar el índice de fagocitosis.
2. Determinar el porcentaje de células activas.
3. Determinar el índice de Ingestión y digestión.

MATERIAL BIOLÓGICO

1. Sangre heparinizada y plasma.
2. Levadura *Cándida albicans*

MATERIAL

1. Microscopio compuesto.
2. 1 jeringa de 20 ml.
3. 1 aguja doblada.
4. Una cámara de Neubauer.
5. Una cámara húmeda.
6. Cubreobjetos.
7. Tapón de hule # 0

METODOLOGÍA

1. Adicionar 1ml de macrodex por cada 5 ml de sangre heparinizada obtenida por punción venosa, mezclar y dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente, en una jeringa de 20 ml con la aguja doblada y el émbolo fijo en la mesa de trabajo.
2. Posteriormente se obtiene un sobrenadante rico en leucocitos (inclinando el cuerpo de la jeringa y empujando el émbolo con cuidado, hasta que aparezcan los eritrocitos).
3. Centrifugar 25 minutos a 1500 rpm.
4. Separar el plasma y mantenerlo en hielo, para posteriormente utilizarlo en el Cóctel (ver preparación de Cóctel)
5. Adicionar al punto de células restantes 10 ml de Cloruro de amonio para lizar eritrocitos y mantenerlo en hielo durante 10 min.
6. Transcurrido el tiempo, resuspender y centrifugar 10 minutos a 1500 rpm.
7. Realizar dos lavados con Solución Salina Balanceada de Hank's (SSBH) cada vez 10 minutos a 1500 rpm.
8. Decantar y ajustar a 1 ml de SSBH al 2 % de albúmina.
9. Posteriormente adicionar 0.5 ml en un cubreobjetos que fue montado previamente en un tapón de hule.
10. Inmediatamente después incubar 20 minutos en cámara húmeda.

SOLUCIONES Y REACTIVOS

1. Macrodex.
2. Cloruro de Amonio.
3. Solución Salina balanceada de Hank's (SSBH)
4. SSBH al 2% de albúmina.
5. Colorante Wright.
6. Aceite de inversión.
7. Goma Arábica.
8. Solución Salina Fisiológica (NaCl al 0,89%).

RESULTADOS

Hacer un conteo de 200 células y determinar Índice de fagocitosis, porcentaje de activos así como índices de ingestión y digestión.(Hoja anexa, después de la bibliografía).

DISCUSIÓN

1. ¿ Quién descubrió el fenómeno de fagocitosis?
2. ¿ Qué células participan en la inmunidad inespecífica?
3. ¿ Cuáles son las fases de la fagocitosis?
4. ¿ Qué es una opsonina?



CONCLUSIONES

EVALUACIÓN

BIBLIOGRAFÍA

1. **Hugh Fudenberg** (1982 . Inmunología Clínica, Manual Moderno.
2. **Roitt, Brostoff and Male** (1997). Inmunología, Cuarta edición, Harcourt Brace, España.
3. **Stites, Terr, Abba and Parslow** .(1996).Inmunología Básica y Clínica, Octava edición, Manual Moderno.

FECHA _____

NO. DE MUESTRA _____

NO.	I	D												
1			41			81			121			161		
2			42			82			122			162		
3			43			83			123			163		
4			44			84			124			164		
5			45			85			125			165		
6			46			86			126			166		
7			47			87			127			167		
8			48			88			128			168		
9			49			89			129			169		
10			50			90			130			170		
11			51			91			131			171		
12			52			92			132			172		
13			53			93			133			173		
14			54			94			134			174		
15			55			95			135			175		
16			56			96			136			176		
17			57			97			137			177		
18			58			98			138			178		
19			59			99			139			179		
20			60			100			140			180		
21			61			101			141			181		
22			62			102			142			182		
23			63			103			143			183		
24			64			104			144			184		
25			65			105			145			185		
26			66			106			146			186		
27			67			107			147			187		
28			68			108			148			188		
29			69			109			149			189		
30			70			110			150			190		
31			71			111			151			191		
32			72			112			152			192		
33			73			113			153			193		
34			74			114			154			194		
35			75			115			155			195		
36			76			116			156			196		
37			77			117			157			197		
38			78			118			158			198		
39			79			119			159			199		
40			80			120			160			200		

OBSERVACIONES: _____

RESULTADOS:

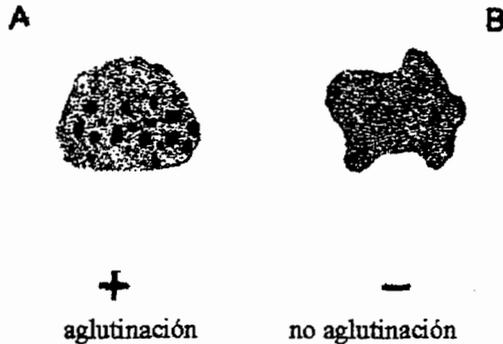
INGERIDOS	DIGERIDOS	ACTIVOS	INDICE DE FAGOCITOSIS
INDICE DE INGESTION	INDICE DE DIGESTION	PORCENTAJE DE ACTIVOS	

Nombre _____

Grupo _____

Fecha _____

PRÁCTICA V GRUPOS SANGUÍNEOS A B O Y FACTOR Rh



INTRODUCCIÓN

El sistema A B O de los antígenos humanos están ampliamente presentados en el superficie de los eritrocitos, fue descubierto en el año 1900 por el inmunólogo alemán Karl Landsteiner.

El factor Rh es después de los antígenos A B O, el más importante en el trabajo de rutina de un banco de sangre. El nombre de este sistema proviene de un experimento realizado en 1940 por Landsteiner y Wiener que consistía en inyectar hematíes del mono *Macacus Rhesus* a conejos. El fenotipo Rh negativo se presenta con una incidencia de aproximadamente 15% en la raza blanca y de 9-10% en la raza negra.

ANTECEDENTES

Los sueros hemoclasificadores que se usaran en esta práctica serán del tipo antiA y antiB, son de origen monoclonal lo cual da mayor especificidad a la prueba siendo útiles en la selección de sangre de tipo A y B por su capacidad de aglutinar a los eritrocitos que lo(s) contengan con excepción del tipo O, la incidencia de grupo A en el mundo es de 35%, la B 15%, la AB 5% y la O de 45%. Los principios utilizados para la determinación de los grupos sanguíneos tienen como base el principio de la aglutinación. Los glóbulos rojos sanguíneos humanos normales que poseen antígenos, se aglutinan en presencia de los anticuerpos específicos dirigidos hacia estos antígenos. Los reactivos antiA, antiB y antiRh aglutinarán a los glóbulos rojos sanguíneos que posean los grupos sanguíneos A y/o B y el factor Rh mientras que los glóbulos rojos del grupo O y factor Rh negativo no reaccionaran con los antisueros.

JUSTIFICACIÓN

Este tipo de pruebas son muy importantes por que sirven para conocer las sustancias antigénicas presentes en los distintos componentes de la sangre, todo esto tiene una aplicación práctica directa en la realización de transfusiones sanguíneas y de trasplantes así como para detectar la existencia de una incompatibilidad Rh materno-fetal. La práctica facilitará la comprensión de la reacción antígeno-anticuerpo.

OBJETIVO

1. Efectuar las pruebas de hemoclasificación de grupos sanguíneos del sistema A B O, y la prueba de hemoclasificación de factor Rh.

MATERIAL

1. 1 pipeta Pasteur.
2. 5 tubos de ensayo de 12 x 75 mm., con tapón de hule.
3. 1 portaobjeto de vidrio o placa para reacciones de aglutinación.
4. 1 gradilla para tubos chicos.
5. 1 lanceta para sangrado desechable o jeringa de 3 ml, con aguja.
6. 1 caja de palillos de madera o de plástico.
7. 1 centrifuga de laboratorio.

SOLUCIONES Y REACTIVOS

1. 1-3 gotas de sangre reciente si se tomo por punción en dedo o 1-3 ml si fue por punción venosa.
2. 1 gota de anticoagulante de EDTA al 10%.
3. 1 torunda de algodón con alcohol o bien con otro desinfectante cutáneo.
4. 1 frasco de suero hemoclasificador antiA.
5. 1 frasco de suero hemoclasificador antiB.
6. 1 frasco de suero hemoclasificador antiRh.
7. 1 frasco de solución salina fisiológica.

METODOLOGÍA

1. En la recolección y preparación de la muestra (no se requiere una preparación especial del donante de la muestra antes de recolectarla).
2. La sangre deberá ser extraída mediante una técnica aséptica con o sin anticoagulante (punción con lanceta o punción con jeringa), si se toma con lanceta, preferentemente se utilizará el dedo haciendo una punción firme y de posición vertical previa desinfección del pulpejo, se limpia la primera gota y se depositan tres gotas separadas una de la otra sobre el portaobjetos o la placa para reacciones, si se tiene de 1 a 3 ml de sangre extraída de la vena, esta se deberá depositar dentro de un tubo de ensayo de 12 x 75 mm., con una gota de anticoagulante de EDTA al 10% tapando y homogeneizandola suave y constantemente por 30 a 60 segundos, después se sacarán tres gotas con pipeta Pasteur, para depositarlas en el portaobjetos o en las placas de reacción, cada gota separada una de la otra.
3. Posteriormente se le añadirá a una gota de sangre 1 gota de antiA y a otra, 1 gota de antiB y a la restante 1 gota de antiRh sin que los goteros toquen a las muestras de sangre.
4. Inmediatamente después homogeneizar utilizando un palillo diferente para cada gota haciendo un círculo de unos 2 cm. de diámetro si se uso un portaobjetos, si se utilizo placa solo se deberá homogeneizar completamente.
5. No interpretar desecados periféricos o filamentos de fibrina como aglutinación.

NOTA IMPORTANTE:

Si se tiene duda en lo referente a algún grupo o factor Rh se recomienda repetir la prueba con eritrocitos en suspensión como se refiere a continuación.

6. Separar por centrifugación (2000 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente) 1-3 ml de sangre con anticoagulante. Descartar el plasma y preparar una suspensión de 5 a 10% (v/v) de los glóbulos rojos a determinar en solución salina isotónica .

Proceder de forma similar a los pasos anteriores.

Interpretación de los resultados.

La aglutinación de los glóbulos rojos en presencia de alguno de los antígenos constituye un resultado **positivo** de la prueba e indica la presencia del antígeno correspondiente.

La ausencia de aglutinación de los glóbulos rojos constituye un resultado **negativo** de la prueba e indica que no ha sido demostrada la presencia del antígeno correspondiente.

RESULTADOS

Reportar los grupos sanguíneos que se obtuvieron, colocando una cruz en el espacio correspondiente.

A	O	B	AB	RH +	RH-

DISCUSIÓN

1. ¿Qué es un antígeno de superficie?
2. ¿Cuántos tipos de grupos sanguíneos existen?
3. ¿Qué es el factor Rh ?
4. ¿Quién descubrió el sistema de grupos eritrocitarios A B O?
5. Explique brevemente las teorías que intentan explicar el sistema Rh.

CONCLUSIONES

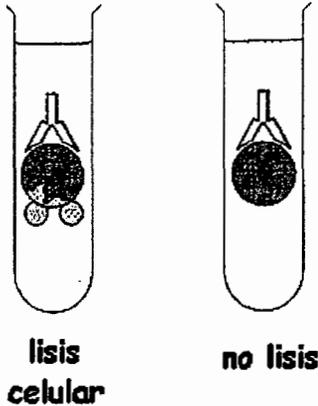
EVALUACIÓN

BIBLIOGRAFÍA

1. **Junqueira&Carneiro** (1996). Histología Básica, Cuarta Edición. Ed. Masson, México.
2. **Rubío, García, Carrasco** (1995). Inmunología, aplicaciones prácticas en Hematología y microbiología. Paraninfo, España.

Nombre _____
Grupo _____
Fecha _____

PRÁCTICA VI DETERMINACIÓN DE ANTIESTREPTOLISINAS



INTRODUCCIÓN

Los microorganismos virulentos son capaces de penetrar en los tejidos con sus proteínas somáticas y polisacáridos intactos instalándose en el cuerpo humano. Los estreptococos emiten una serie de sustancias hacia el medio que los rodea (exotoxinas). Muchas de estas exotoxinas presentan propiedades enzimáticas y antigénicas. Una de estas enzimas con poder antigénico es la estreptolisina O (SLO).

La SLO es una hemolisina producida por la mayoría de las cepas de estreptococos, y se llama así porque es lábil frente al oxígeno, es decir, porque sólo es capaz de lisar los hematíes cuando está en forma reducida, el cuerpo humano es capaz de reconocer a esta estreptolisina y elaborar anticuerpos que neutralizan la actividad enzimática de la SLO. Estos Ac reciben el nombre de antiestreptolisinas (ASLO).

ANTECEDENTES

La determinación de ASLO se basa en la capacidad de la estreptolisina reducida de actuar como una hemolisina. El ensayo se realiza diluyendo de manera seriada el suero del paciente; a cada dilución se adiciona un volumen de estreptolisina y se incuba para permitir la combinación antígeno-anticuerpo. Enseguida se adiciona un volumen de eritrocitos. Si en el suero hay antiestreptolisinas, la lisis de eritrocitos se observará.

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones por estreptococos son bastante frecuentes, en éstas se produce un aumento significativo de la concentración de ASLO (anticuerpo que el organismo genera y que neutralizan la actividad enzimática de la estreptolisina). Este aumento se produce tanto en infecciones agudas (faringoamigdalitis aguda) como en las complicaciones de éstas (fiebre reumática). La práctica facilitará la comprensión del diagnóstico inmunológico de las enfermedades infecciosas.

OBJETIVO

1. Determinar la presencia de estreptolisinas en el suero problema.

MATERIAL

1. 3 tubos de ensayo grandes.
2. 14 tubos de ensayo chicos.
3. 1 pipeta de 2.0 ml, dividida en centésimas.
4. 1 gradilla para tubos de ensayo chicos.
5. 1 centrifuga de laboratorio clínico.
6. 1 baño maría a 37 °C.

SOLUCIONES Y REACTIVOS

1. Suero sanguíneo problema.
2. Frasco de reactivo de estreptolisina O liofilizada.

3. 50 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.6 concentrado 20X.
4. Agua destilada.
5. 1 a 3 ml de eritrocitos del grupo O Rh positivo o negativo.

METODOLOGÍA

1. Preservar entre 2 y 8 °C el reactivo liofilizado. La solución mortiguadora concentrada se almacena a temperatura ambiente para la hidratación y reducción de la estreptolisina O.
2. Adicionar 10 ml de agua destilada por frasco y dos capilares de hidrosulfito de sodio hasta el momento de utilizar.
3. Agitar hasta lograr una completa disolución. **Usar el mismo día**, ya que al reoxidarse se inactiva. La estreptolisina hidratada, no reducida, puede conservarse entre 2 y 8 °C hasta por 30 días.

Solución amortiguadora. Diluir 50 ml de la solución concentrada 20X hasta 1000 ml con agua destilada. Si la solución concentrada presenta cristales, disolverlos calentando en baño maría a 37 °C . **Eritrocitos.** Obtener sangre humana tipo O, sin importar el factor Rh, también se podrán usar eritrocitos de conejo. Lavar a los eritrocitos tres veces con solución salina fisiológica. Preparar una suspensión de eritrocitos al 5% en regulador de solución salina fosfatada PBS pH 6.6.

Realización de la prueba de Antiestreptolisina.

Marcar 3 tubos de ensayo de 1:10, 1:100 y 1:500, y utilizar PBS pH 6.6 para diluir el suero de la siguiente manera:

1:10 (0.5 ml. de suero + 4.5 ml. de regulador).

1:100 (1.0 ml. de la dilución 1:10 + 9.0 ml. de regulador).

1:500 (2.0 ml. de la dilución 1:100 + 8.0 de regulador).

A partir de estas 3 diluciones, se procederá a efectuar a las recomendadas por Rantz y Randall para evaluar el grado de naturalización y hemólisis.

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD DE ANTIESTREPTOLISINA EN SUERO

Tubo No.	DILUCIÓN DEL SUERO											CONTROLES		
	1:10			1:100					1:500			Glóbulos rojos	Estrepto lisina	
Ml de suero	0.8	0.2	0.1	0.8	0.6	0.4	0.3	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	—	—
Ml de regulador	0.2	0.8	0.0	0.2	0.4	0.6	0.7	0.0	0.2	0.5	0.6	0.8	1.5	1.0
Ml de estreptolisina O	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	—	0.5
	Mezcle bien. Incube a 37°C durante 15 minutos.													
Ml de glóbulos rojos al 5%	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	Mezcle bien. Incube a 37°C durante 15 minutos.													
	Resuspenda los glóbulos rojos. Incube durante 30 minutos más													
	Centrifuge a 2000 rpm durante 5 minutos.													
Unidades Todd	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	1250	2500	—	—

INTERPRETACIÓN:

El título del suero se expresa en unidades Todd, que es la recíproca de la última dilución del suero que no muestra hemólisis.

RESULTADOS

Determinar el título de ASLO en el suero problema.

DILUCIONES <i>Suero Estreptolisina</i>	HEMOLISIS
1:10	
1:100	
1:500	

DISCUSIÓN

1. ¿Qué es una antiestreptolisina?
2. ¿Qué enfermedades produce el estreptococo beta-hemolítico?
3. ¿Qué es una estreptolisina?

CONCLUSIONES

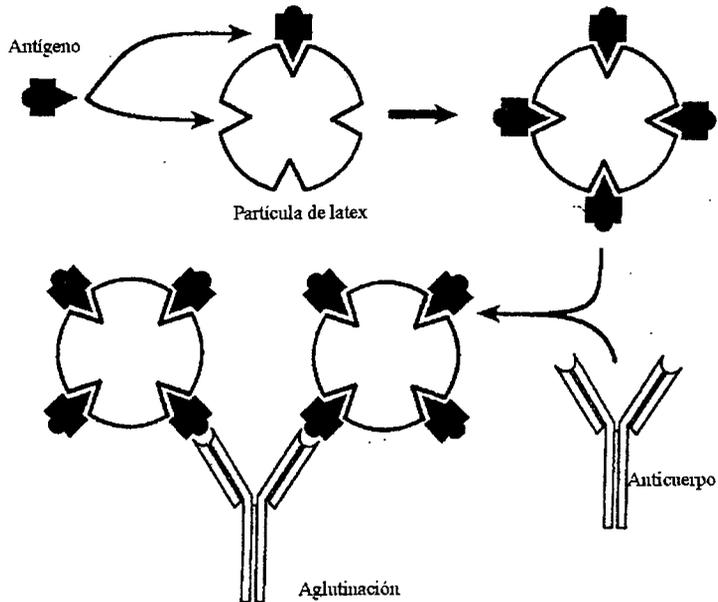
EVALUACIÓN

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- **Roitt, Brostoff and Male** (1997). Inmunología, Cuarta edición, Harcourt Brace, España
2. **Rubío, García, Carrasco** (1995). Inmunología, aplicaciones prácticas en Hematología y microbiología. Paraninfo, España.

Nombre _____
Grupo _____
Fecha _____

PRÁCTICA VII FACTOR REUMATOIDE



INTRODUCCIÓN

Durante la ontogenia las células del sistema inmune desarrollan en forma aleatoria, la capacidad para responder contra los antígenos extraños o propios, la mayoría de los linfocitos T y B que reconocen antígenos propios son eliminados inmediatamente después de su generación, o inactivados en la periferia. Sin embargo el sistema inmunitario puede presentar anomalías que pueden dar lugar a inmunodeficiencias, hipersensibilidad y **enfermedades autoinmunes**, como la artritis reumatoide que es una enfermedad en la que se inflaman las articulaciones (membrana sinovial) produciendo dolor y dificultad para el movimiento, su duración es variable, irregular y larga, por lo que se dice es una enfermedad crónica.

ANTECEDENTES

Los factores reumatoides (FR) son una especie de autoanticuerpos, del tipo de gammaglobulinas anormales del tipo Ig M que actúan como anticuerpo contra el fragmento Fc de gammaglobulinas de la clase Ig G propias alteradas estructuralmente, por lo que también se les llama factores antigammaglobulínicos, en la realización de esta práctica el reactivo de latéx-globulina se aglutinará en presencia de un suero adecuadamente diluido, que contenga el factor reumatoide.

La detección en placa es una prueba rápida para la determinación del factor reumatoide, contribuyendo de esta manera en el diagnostico de la artritis reumatoide .

JUSTIFICACIÓN

La práctica facilitará al estudiante la comprensión del diagnóstico inmunológico de la artritis reumatoide (enfermedad autoinmune).

OBJETIVO

1. Realizar la prueba en placa para el factor reumatoide con diluciones en los sueros que resulten positivos.

MATERIAL

1. 1 placa de vidrio para reacciones de aglutinación.
2. 1 pipeta Pasteur.
3. 1 pipeta de 2.0 ml dividida en centésimas.
4. 10 tubos de ensayo chicos .
5. 1 gradilla para tubos de ensayo chicos.
6. 10 palillos de madera o de polietileno.

SOLUCIONES Y REACTIVOS

1. Latex globulina (5 ml) partículas de poliestireno sensibilizadas con gama-globulina humana.
2. Suero positivo para control (2ml).
3. Suero negativo para control (2 ml).
4. Diluyente; solución concentrada de regulador glicina-salina, pH 8.2, para su uso, diluir 1:10, tomando un volumen de solución concentrada y nueve volúmenes de agua destilada o desmineralizada. De esta manera se obtiene una solución isotónica regulada de pH 8.2.
5. Agua destilada o desmineralizada.
6. Suero sanguíneo problema.

METODOLOGÍA

Prueba cuantitativa.

1. Colocar en un tubo perfectamente limpio, 1 ml de la solución reguladora glicina-salina, pH 8.2 (diluida 1:10 a partir de la solución concentrada). Añádale 1 gota del suero problema y agítese bien.
2. Colocar una gota de la mezcla anterior en uno de los óvalos de la placa de vidrio para reacciones de aglutinación.
3. Agregar una gota del reactivo de látex-globulina. Mezcle perfectamente con un palillo extendiendo sobre toda la superficie del óvalo de la placa de vidrio.
4. Controles
Negativo : en una área de reacción de la placa de vidrio, colocar una gota de suero negativo de control y agregue una gota del reactivo de látex-globulina. Mezcle perfectamente con un palillo.
Positivo: el mismo procedimiento anterior pero ahora utilizando suero positivo del control.
5. Oscilar suavemente la placa durante uno o dos minutos y observe microscópicamente si aparece aglutinación.

Interpretación de la prueba.

Negativo: suspensión uniforme sin aglutinación visible, comparable al control negativo.

Positivo débil: aglutinación visible por formación de pequeños agregados a solo aglutinación parcial.

Positivo: aglutinación visible por formación de agregados grandes y fondo claro, comparable al control positivo.

Nota: Algunos sueros provenientes de personas sanas pueden presentar reacciones falsas positivas (en general débiles) pero esta incidencia es baja. También pueden obtenerse reacciones positivas en enfermedades diferentes a la artritis reumatoide por ejemplo lupus eritematoso diseminado, sarcoidosis, cirrosis hepática y otras enfermedades inflamatorias crónicas.

Prueba semicuantitativa en placa de vidrio.

Esta prueba deberá llevarse a cabo con suero que ha dado una reacción positiva por el método de lectura cualitativa en placa de vidrio.

Efectuar diluciones del suero del paciente de la siguiente manera:

1. Colocar 9 tubos limpios en una gradilla y márkuelos del 1 al 9.
2. Colocar con pipeta 1.9 ml de solución reguladora glicina-salina, pH 8.2 en el tubo 1 y 1.0 ml en cada uno de los tubos restantes.
3. Añadir 0.1 ml de suero problema al tubo 1; mezcle bien y transfiera 1.0 ml al tubo 2. Mezclar bien y transferir 1.0 ml al tubo 3. Continuar haciendo la misma operación hasta llegar al tubo 9. Las diluciones son las siguientes:

Tubo No.	Dilución
1	1/20
2	1/40
3	1/80
4	1/160
5	1/320
6	1/640
7	1/1280
8	1/2560
9	1/5120

4. Colocar una gota de cada una de las diluciones efectuadas por separado en cada espacio de reacción en la placa de vidrio y añádales una gota del reactivo látex-globulina. Continuar con el mismo procedimiento que para la prueba cualitativa arriba mencionada.

Interpretación de la prueba semicuantitativa

El título corresponderá la ultima dilución en el que se presente la aglutinación del reactivo látex-globulina.

RESULTADOS

Anotar si se observo la aglutinación .

TUBO N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
DILUCIÓN	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120
AGLUTINACIÓN									

DISCUSIÓN

1. ¿ Qué es la artritis reumatoide?
2. ¿Qué clase de inmunoglobulina es el Factor Reumatoide ?
3. ¿ Que tienen las partículas de látex en esta práctica?

CONCLUSIONES

EVALUACIÓN

BIBLIOGRAFÍA

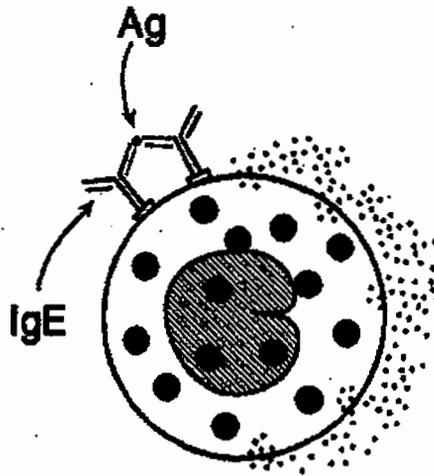
- 1.- **Roitt, Brostoff and Male** (1997). Inmunología, Cuarta edición, Harcourt Brace, España.
- 2.- **Rubío, García, Carrasco** (1995). Inmunología, aplicaciones prácticas en Hematología y microbiología. Paraninfo, España.

Nombre _____

Grupo _____

Fecha _____

PRÁCTICA VIII PRUEBAS CUTÁNEAS DE HIPERSENSIBILIDAD I Y IV



INTRODUCCIÓN

El término de hipersensibilidad se aplica a las situaciones en las que se produce una respuesta inmune adaptativa exagerada o inadecuada. Para que esto suceda, debe haber existido un contacto previo con el Ag que la provoca, lo que se llama la sensibilización frente a un antígeno determinado. Gell y Coombs clasificaron la hipersensibilidad en cuatro tipos de acuerdo a su mecanismo de reacción y Roitt indicó un quinto grupo. Las reacciones de hipersensibilidad son consecuencia del mal comportamiento de respuesta inmune normalmente beneficiosa, y a veces llegan a provocar reacciones inflamatorias y lesiones tisulares bastante severas. Estas reacciones pueden ser producidas por muchos antígenos. Los agentes con capacidad para provocar hipersensibilidad son diferentes en cada individuo, un ejemplo es la tuberculina o derivado de proteína purificada (PPD) la cual es una solución

esterilizada, preparada a partir de productos de crecimiento y lisis tratados con calor de una o más cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, se aplica como un agente de diagnóstico para probar la hipersensibilidad a la tuberculoproteína.

ANTECEDENTES

Las reacciones de hipersensibilidad de tipo I (inmediata) se producen cuando se desencadena una respuesta con síntesis de IgE, frecuentemente contra agentes ambientales inocuos, como el polen, los ácaros de polvo doméstico o las escamas cutáneas de animales. En la piel se ve en forma de vesícula con elementos líquidos de exudación.

En la reacción de hipersensibilidad tipo II (también inmediata), el antígeno se une a una célula, puede producirse cualquier tipo de inmunoglobulina como el anticuerpo complementario hacia este antígeno, su reacción antígeno-anticuerpo generara formación de complejos inmunes que alteraran a la célula.

La reacción de hipersensibilidad tipo III (tardía) puede manifestarse semanas, meses o años después de la sensibilización, está mediada por complejos inmunes que están en circulación, éstos en ocasiones llegan a acumularse en las paredes de los vasos sanguíneos provocando la formación de un coágulo, disminuir el flujo de la sangre hacia cierto tejido, provocando así una necrosis.

La reacción de hipersensibilidad tipo IV (retardada) puede tardar horas en manifestarse, está mediada por células (linfocitos citotóxicos, cooperadores , macrófagos y fibroblastos). Esta reacción generalmente se observa en las infecciones crónicas provocadas por los microorganismos parásitos intracelulares. Una característica típica es la formación de granulomas o pápulas en la piel, además de una inflamación crónica, cuando el problema no puede ser resuelto, los fibroblastos encapsulan en colágena las células infectadas.

Las pruebas cutáneas se hacen mediante la aplicación a nivel de la piel de los Ag que probablemente han sensibilizado al individuo y se observa la reacción que desencadena a través del diámetro del eritema que se produce en el sitio de la aplicación.

REACCIONES CUTÁNEAS PARA EL ESTUDIO DE LOS ESTADOS DE HIPERSENSIBILIDAD

DENOMINACIÓN	TIEMPO DE MANIFESTACIÓN	FORMA DE PRESENTACIÓN
TIPO I	10 – 30 minutos	Vesícula
TIPO IV	42 – 72 horas	Pápula

JUSTIFICACIÓN

Los factores ambientales (grado de exposición al alérgeno, infecciones o contaminación ambiental) modifican y determinan la intensidad de la respuesta de IgE y de síntomas clínicos. La alergia es común en todo el mundo, sin embargo, la predilección por enfermedades alérgicas específicas varía entre los diferentes grupos de edad, sexo y raza . La práctica de aplicación de los antígenos de polvo casero y de PPD proporciona al alumno la habilidad del manejo de una técnica básica en alergología y facilitara la comprensión de las reacciones de hipersensibilidad.

OBJETIVOS

1. Observar la reacción alérgica cutánea tipo I .
2. Observar la reacción de hipersensibilidad cutánea tipo IV.

MATERIAL BIOLÓGICO

1. Antígeno de pelo de gato.
2. Antígeno de polvo casero.
3. PPD (Proteína purificada derivada del *Micobacterium tuberculosis*).

SOLUCIONES Y REACTIVOS

1. Alcohol.
2. Solución salina fisiológica.

MATERIAL

1. Algodón.
2. Jeringa para insulina.

METODOLOGÍA

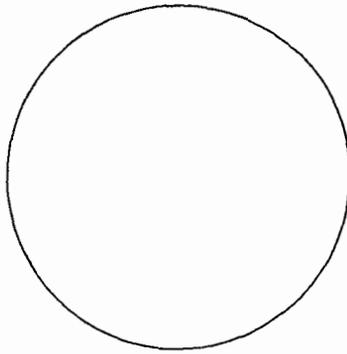
1. Con un algodón impregnado de alcohol, limpiar la superficie del antebrazo.
2. Aplicar una dosis mínima por medio de inyección subcutánea con la jeringa para insulina de antígenos de polvo en el antebrazo , parte interna.
3. Después aplicar el testigo negativo (solución fisiológica o diluyente de los antígenos) de la misma forma, a una distancia de tres centímetros de la primera.
4. Por último, aplicar el antígeno de pelo de gato con la misma metodología a una distancia del testigo negativo de tres centímetros.
5. En el otro antebrazo inyectar el PPD.
6. Después de 20 minutos aproximadamente, se observa si hubo reacción, tomando en cuenta el criterio de evaluación de la siguiente manera:
 - A) menor a un centímetro de enrojecimiento y/o hinchazón = negativo; de dos centímetros = positivo y se marca con una +; de tres centímetros = ++; mayor de 4-5 centímetros = +++
 - B) Testigo negativo: no debe de hacer reacción.
 - C) La reacción de PPD se evalúa después de 72 horas a la misma manera que se describe en el apartado A.

RESULTADOS

Nota:

Observar el área en la que se aplicaron los antígenos y hacer las anotaciones necesarias, no solo en los 20 minutos después de su exposición si no también observar durante los próximos cuatro días en el caso del PPD; así como realizar dibujos de lo observado.

TIPO DE ANTÍGENO	TIEMPO DE MANIFESTACIÓN	+	++	+++	OBSERVACIONES
Ag Pelo de gato					
Ag Polvo casero					
PPD (Proteína purificada del <i>Micobacterium tuberculosis</i>)					
Testigo Negativo (Sol. Sal. Fis.)					



DISCUSIÓN

1. ¿Cuántos tipos de hipersensibilidad existen?
2. ¿Que es un alérgeno?
3. ¿Cuál alérgeno es más común?
4. ¿Para qué se aplica el PPD?

CONCLUSIONES

EVALUACIÓN

BIBLIOGRAFÍA

1. **Hugh Fudenberg** (1982). Inmunología Clínica, Manual Moderno.
2. **Peña M.** (1996). Inmunología Clínica. Bases Moleculares y Celulares, Ed. ELA, España.
3. **Roitt, Brostoff and Male** (1997). Inmunología, Cuarta edición, Harcourt Brace, España.
4. **Stites, Terr, Abba and Parslow** (1996). Inmunología Básica y Clínica, Octava edición, Manual Moderno, México.

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
PROGRAMA DE ASIGNATURA

6a. VERSION

NOMBRE DE MATERIA

INMUNOBIOLOGIA

CODIGO DE MATERIA

BC 116

DEPARTAMENTO

BIOLOGIA CELULAR Y MOLECULAR

CODIGO DE DEPARTAMENTO

BC

CENTRO UNIVERSITARIO

CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

CARGA HORARIA

42

PRACTICA

63

TOTAL

105

CREDITOS

10

TIPO DE CURSO

TEORICO-PRACTICO

NIVEL DE FORMACION PROFESIONAL

LICENCIATURA

PRERREQUISITOS

BC108M BIOLOGIA MOLECULAR

CORERREQUISITOS

PATOLOGIA, EVOLUCION Y FISILOGIA COMPARADA

FECHA DE ELABORACION

12 MARZO DE 2002

ACADEMIA

BIOLOGIA CELULAR Y MOLECULAR

PARTICIPANTES

SUBACADEMIA DE INMUNOBIOLOGIA
DRA. GALINA PETROVNA ZAITSEVA
M.C. ALFONSO ENRIQUE ISLAS RODRIGUEZ
M.C. EDUARDO VAZQUEZ VALLS

OBJETIVO GENERAL

INICIAR AL ALUMNO EN EL CAMINO DE LA ESPECIALIZACION Y PROFESIONALIZACION DENTRO DE LA CARRERA DE BIOLOGIA, EN EL CAMPO DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, PARA DAR ELEMENTOS DE ANALISIS, PARA COMPRENDER EL PAPEL DE LA RESPUESTA INMUNE EN LA ESCALA BIOLOGICA A LO LARGO DEL DESARROLLO EVOLUTIVO (FILOGENIA) Y DEL DESARROLLO EMBRIONARIO (ONTOGENIA). ASIMISMO, SE PRETENDE DAR LAS BASES PARA LA COMPRENSION DE LOS MECANISMOS MOLECULARES INHERENTES A LA REGULACION DE LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL (RIH) Y CELULAR (RIC) DE LOS SERES VIVOS, DESDE PLANTAS, INVERTEBRADOS Y HASTA VERTEBRADOS INFERIORES Y SUPERIORES.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. ENSEÑAR LA INMUNIDAD COMO FUNCION FUNDAMENTAL DE LOS SERES VIVOS CON LA FINALIDAD DE COMPRENSION DE LA FISIOLOGIA DE LA ADAPTACION A TRAVES DEL RECONOCIMIENTO Y DEFENSA DE LO PROPIO.
2. PROPORCIONAR AL ALUMNO UN CONOCIMIENTO BASICO DE LA MORFOLOGIA Y FISIOLOGIA DE LOS COMPONENTES DE LA RESPUESTA INMUNE.
3. VALORAR LA IMPORTANCIA DEL ENFOQUE EVOLUTIVO EN EL ESTUDIO DEL SISTEMA INMUNE.

UNIDADES CONCEPTUALES

1. INTRODUCCION A INMUNOBIOLOGIA.
 - 1.1 ASPECTOS HISTORICOS DE LA INMUNOLOGIA
 - 1.2 DEFINICION DE LA RESPUESTA INMUNE Y TIPOS DE INMUNIDAD
 - 1.3 CONCEPTO DEL ANTIGENO
 - 1.4 CONCEPTO DE VACUNACION
2. ORIGEN EVOLUTIVO DE LA RESPUESTA INMUNE
 - 2.1 DESDE LA AMIBA HASTA EL SISTEMA INMUNE
 - 2.1.1. EL PROBLEMA DE LA ESPECIFICIDAD.
 - 2.1.2. LAS NUEVAS FUNCIONES: UN CRUCIGRAMA EVOLUCIONARIO
 - 2.1.3. EVOLUCION EMERGENTE Y EL ACTUAL DEL SI; LOS MENSAJES
 - 2.2 INMUNIDAD DE LOS INVERTEBRADOS
 - 2.3. INMUNIDAD DE LOS VERTEBRADOS
 - 2.4. INMUNIDAD DE LAS PLANTAS
 - 2.5. ONTOGENIA DEL SISTEMA INMUNE Y ASPECTOS DE ENVEJECIMIENTO
3. LAS CELULAS Y ORGANOS DEL SISTEMA INMUNE
 - 3.1. LOS ORGANOS PRIMARIOS
 - 3.1.1. MEDULA OSEA
 - 3.1.2. TIMO
 - 3.1.3. BURSA DE FABRICIO
 - 3.2. LOS ORGANOS SECUNDARIOS
 - 3.2.1 BAZO
 - 3.2.2. GANGLIOS LINFATICOS
 - 3.2.3. AMIGDALAS
 - 3.2.4. TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A LAS MUCOSAS
 - 3.3. CELULAS INVOLUCRADAS EN LA RESPUESTA INMUNE
 - 3.3.1 MACROFAGOS Y FAGOCITOSIS
 - 3.3.2. LINFOCITOS B
 - 3.3.3. LINFOCITOS T
 - 3.3.4. CELULAS NK
 - 3.3.5. GRANULOCITOS
 - 3.4. FACTORES HUMORALES DE LA RESPUESTA INMUNE
 - 3.4.1. SISTEMA DE COMPLEMENTO
 - 3.4.2. INMUNOGLOBULINAS Y LOS ASPECTOS DE SU DIVERSIDAD
 - 3.4.3. CITOCINAS Y HORMONAS TIMICAS
4. INMUNOREGULACION
 - 4.1. CONCEPTO DE MHC
 - 4.2. RECONOCIMIENTO DEL ANTIGENO
 - 4.2.1. REQUERIMIENTO DE LAS DOS O MÁS SEÑALES
 - 4.2.2. RECONOCIMIENTO ANTIGENICO ASOCIATIVO
 - 4.2.3. LA DISCRIMINACION PROPIO-NO PROPIO
 - 4.2.4. LA PARADOJA DE LAS INMUNOGLOBULINAS ESENCIALES ANTIPROPIO
 - 4.3. TOLERANCIA INMUNOLOGICA
 - 4.4 ASPECTOS INMUNOLOGICOS DE LA INFLAMACION
 - 4.5 INTERACCION NEUROENDROCINOINMUNE
5. INMUNOPATOLOGIA
 - 5.1. CONCEPTO DE HIPERSENSIBILIDAD
 - 5.2. CONCEPTO DE AUTOINMUNIDAD
 - 5.3. DEFENSA ANTITUMORAL
 - 5.4. MECANISMOS DE LA DEFENSA ANTIINFECCIOSA

PRACTICAS DE LABORATORIO

1. Fagocitosis
2. Inmunodifusión radial
3. Inmunología comparativa de los vertebrados
4. Grupos sanguíneos y células inmunocompetentes en humano
5. Reacciones de Hipersensibilidad tipo I Y IV
6. Titulación de anticuerpos

BIBLIOGRAFIA BASICA

Roitt, Brostoff, Male – Immunology –Ed. Mosby, 1996

Rodney E. Langman - *The Immune System* – Ed. Academic Press, 1989

R. J. Turner – Immunology: a comparative approach – Ed. John Wiley Sons

BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTARIA

Artículos de Revistas:

Immunology Today

Immunobiology

Developmental and Comparative Immunology

ENSEÑANZA-APRENDIZAJE

Capacidad de análisis del conocimiento adquirido con el enfoque evolutivo.

Habilidad en las técnicas básicas de Inmunobiología.

CARACTERISTICAS DE LA APLICACION PROFESIONAL DE LA ASIGNATURA

LAS HABILIDADES QUE ADQUIERE EL ALUMNO EN EL LABORATORIO, Y SU VISION CIENTIFICA SOBRE INMUNIDAD LE PERMITIRAN DESARROLLARSE COMO INVESTIGADOR O ANALISTA CLINICO EN EL AREA DE BIOMEDICINA.

CONOCIMIENTOS, HABILIDADES, VALORES, ETC.

CONOCIMIENTO SOBRE LA RESPUESTA INMUNE CON EL ENFOQUE EVOLUTIVO, SU APLICACIÓN PRACTICA Y MECANISMOS DE INMUNOREGULACION.

APTITUDES DE MANEJO DE FUENTES DE LA INFORMACION (LIBROS, REVISTAS, MEDLINE, INTERNET, ETC), ANALISIS CRITICO DEL CONOCIMIENTO ADQUIRIDO.

VALORES HUMANOS COMO RESPETO A LA VIDA.

MODALIDADES DE EVALUACION

I.	Exámenes parciales	40 %
II.	Examen departamental	10%
III.	Prácticas (asistencia y reporte)	20%
IV.	Evaluación continua :	30%
	1. - Participación (análisis y discusión de las lecturas recomendadas, tipo de presentación)	10 %
	2. - Tareas	10%
	3. - Asistencia	10%