



**UAEM**

Universidad Autónoma  
del Estado de México

**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**  
**Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**Reestructuración, 2015**



**Universidad Autónoma del Estado de México**  
**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**  
**Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia**



## **Manual de Prácticas.** **INMUNOLOGÍA**

**Elaboro**

M. en C. Lemuel León Lara

Dr. Valente Velázquez Ordoñez

Dr. Israel Alejandro Quijano Hernández.

**Fecha de  
aprobación**

Junio 2019  
H. Consejo Académico

Junio 2019  
H. Consejo de Gobierno



**UAEM**

Universidad Autónoma  
del Estado de México

**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**  
**Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia**  
**Reestructuración, 2015**



## ULTIMA REVISIÓN

### Revisores

Dr. Edgardo Soriano Vargas

M. en C. Lemuel León Lara

### Fecha de aprobación

27 /Junio/2022  
H. Consejo Académico

27/Junio/2022  
H. Consejo de Gobierno



## Índice

---

I. Datos de identificación

---

II. Introducción

---

III. Lineamientos

---

IV. Organización y desarrollo de las prácticas

**Práctica 1.** Identificar los órganos linfoides en diferentes especies y observación de células leucocitarias en frotis sanguíneo e improntas de órganos.

**Práctica 2.** Toma de muestra sanguínea para obtener suero.

**Práctica 3.** Identificación de linfocitos y fagocitos.

**Práctica 4.** Evidenciar la presencia de anticuerpos aglutinantes específicos a salmonela en muestras sanguíneas de aves.

**Práctica 5.** Prueba de intradermorreacción (Tuberculina).

**Práctica 6.** Identificación de productos biológicos comerciales en prontuario farmacéutico.

**Práctica 7.** Manejo y aplicación de una vacuna

**Práctica 8.** Evaluación de la calidad del calostro.

**Práctica 9.** Pruebas de aglutinación para el diagnóstico de la brucelosis.

---

V. Bibliografía

---



**Primer Periodo**

**I. Datos de identificación**

Espacio educativo donde se imparte **Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Licenciatura **Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Unidad de aprendizaje **Inmunología** Clave **L43729**

Carga académica **4** **2** **6** **10**  
 Horas teóricas Horas prácticas Total de horas Créditos

Período escolar en que se ubica **1** **2** **3** **4** **5** **6** **7** **8** **9**

Seriación **Microbiología** **Ninguna**  
 UA Antecedente UA Consecuente

**Tipo de Unidad de Aprendizaje**

Curso  Curso taller

Seminario  Taller

Laboratorio  Práctica profesional

Otro tipo (especificar)

**Modalidad educativa**

Escolarizada. Sistema rígido  No escolarizada. Sistema virtual

Escolarizada. Sistema flexible  No escolarizada. Sistema a distancia

No escolarizada. Sistema abierto  Mixta (especificar)

**Formación común**

N/A

**Formación equivalente**

**Unidad de Aprendizaje**



## I. Introducción

La inmunología es una rama de la medicina que se encarga de estudiar la respuesta del organismo hacia las diferentes sustancias a las que se enfrente. En este plan de estudios se imparte en el tercer periodo y forma parte de las unidades de aprendizaje básicas del mismo.

Reconocer la forma en que se desarrolla la respuesta inmune le permite al veterinario y cualquier profesional de la salud implementar medidas médicas específicas para recuperar la salud de los pacientes. Es importante recordar que en ocasiones el sistema inmune identifica sustancias propias como si fueran extrañas y establece una respuesta similar a cuando existe una infección, esto lleva un costo tisular importante y es fundamental identificarlo tempranamente.

La respuesta inmune y las sustancias y células que produce también han sido utilizadas para realizar diagnóstico de enfermedades en los animales, pruebas tan simples como la aglutinación en placa, hasta aquellas tan sofisticadas como el inmunoblott son sumamente útiles para el quehacer veterinario

Este manual de prácticas pretende definir la guía para el desarrollo de análisis inmunológicos que le permitirán al discente construir una imagen clara de lo que sucede en el organismo cuando se sucede una infección y como este responde a ella.

## II. Lineamientos

Para el desarrollo de estas prácticas deberán tomarse en cuenta los lineamientos establecidos para este fin en el departamento de práctica, CIESA y Hospital Veterinario. Así mismo deben tomarse en cuenta la reglamentación correspondiente con el desecho de residuos peligrosos biológico infecciosos.

- Lineamientos de los laboratorios Multidisciplinarios de Docencia de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UAEM
- Manuales de CICUAL-DISP
- 

[http://veterinaria.uaemex.mx/docs/Leg\\_192\\_Lineamientos%20laboratorios.pdf](http://veterinaria.uaemex.mx/docs/Leg_192_Lineamientos%20laboratorios.pdf)



### III. Organización y desarrollo de las prácticas

Unidad	Número de la práctica
Introducción a la inmunología	1

#### Objetivo o competencia de la práctica:

Identificar los órganos linfoides en diferentes especies y observación de células leucocitarias en frotis sanguíneo e improntas de órganos, cubre el contenido 1.2.4 de la guía pedagógica

#### Materiales, reactivos y/o equipo:

- Biológico
- Un conejo de destete entre 4 y 5 semanas de edad
- Un pollo de engorda entre 2 y 3 semanas de edad
- Una trucha arcoíris de aproximadamente 250 g de peso vivo
- Fármacos para la eutanasia
- Acepromacina (AC) solución 0.5% frasco de 10mL.
- Xilacina (XC) solución al 2% frasco de 10mL.
- Pentobarbital sódico (PB) en solución al 6.2% frasco de 50mL.
- Tabletas de ácido acetil salicílico (AO) 500 mg en base de ácido cítrico y bicarbonato de sodio
- Médico quirúrgico
- Jeringa desechable de 3mL., con aguja calibre 22
- Jeringa hipodérmica desechable de 3mL., con aguja calibre 24
- Compresa de gasa de algodón
- Estuche de disección
- Bioseguridad
- Cubrebocas
- Bata de laboratorio
- Guantes de látex de cirujano
- Botas de hule
- Tubos con EDTA
- Laminillas

**Desarrollo:**

Efectuar previamente las lecturas de los procedimientos de necropsia de las aves, mamíferos y peces recomendados en la bibliografía de la práctica. El procedimiento de disección de los animales se realizara en la sala de necropsia. La eutanasia del ave se efectuara previa sujeción y extensión del ala para realizar la administración intravenosa en la vena braquial con una solución de PB a razón de 124 mg/Kg de peso vivo, en su caso también se podrá aplicar por vía intracardiaca al sujetar el ave en decúbito dorsal, con las alas sujetadas ligeramente sobre el torso, inclinar el ave en un ángulo sobre la superficie de la mesa de necropsia e insertar la aguja deslizando la misma sobre el dedo índice para dirigirla en la unión de las clavículas en el fondo de la furcula, se introduce la aguja y se alinea hacia arriba en un ángulo cercano a los 20° y se presiona al fondo en un eje medial hacia al centro de la cavidad torácica con ligera succión del embolo de la jeringa , al obtener un poco de sangre en el barril de la jeringa se inyecta la solución de PB 62mg/Kg. Al desvanecerse el ave se confirma clínicamente la muerte de la misma se sumerge sujetándola de la cabeza, en una cubeta plástica conteniendo una suspensión de detergente en polvo para mojar las plumas ligeramente, se deposita el cuerpo del ave sobre la mesa en una posición de decúbito dorsal.

La sujeción del conejo se realiza con el apoyo de un compañero de trabajo. Sujetando con la mano derecha la piel del cuello y levantándolo para posarlo sobre la palma de la mano izquierda: El operario realiza la administración intramuscular de la solución AC en una dosis de 0.05mg/Kg., al producirse la sedación del animal se coloca en un sujetador para contener el animal, dejando libre la cabeza y las orejas, posteriormente una de las orejas se embroca con una torunda de alcohol etílico al 70% v/v., para resaltar la vena auricular y realizar la aplicación intravenosa de la solución de PB a una dosis de 62 mg/Kg. Al desvanecer el animal este se retira del sujetador y se coloca en decúbito dorsal sobre la mesa de necropsia y se confirma clínicamente la muerte del animal. El pez se someterá al procedimiento de eutanasia, colocándolo en una cubeta plástica con aproximadamente 2L de de agua, a la cual se agregan 5 tabletas de AO, se deja formar las burbujas de CO<sub>2</sub> durante algunos minutos cuando el animal este sin movimiento y en decúbito lateral se extrae del agua y se deposita sobre un paño de algodón sobre la mesa, hasta que cese el movimiento opercular y el cuerpo este flácido. De manera alternativa se pueden utilizar 1mL., de XA por el volumen de agua presente en la cubeta y se deja reposar al pez por 10 minutos, posteriormente se sigue el procedimiento anterior.



**PROCEDIMIENTO:** El procedimiento de necropsia del ave y del conejo se realizara de acuerdo a lo descrito por Aluja 1986., para favorecer la disección y reconocimiento de los órganos linfoides y su disección. El pez será estudiado a partir del procedimiento descrito por Zamora et al., 2007. En el ave sobre el cuello entre el esófago y la tráquea se distribuyen el timo en nódulos con forma de rosario. En la cavidad abdominal cerca de la molleja se localiza el bazo con forma globosa de color ligeramente purpura. En el mesenterio intestinal se aprecian los nódulos linfoides, sobre la mucosa del yeyuno e íleon se podrán identificar las placas de Peyer al efectuar el reconocimiento de los órganos linfoides y su estructura, en la convergencia de de los ciegos y la porción distal del intestino delgado, se aprecian de cada lado un ligero nódulo correspondiente a las tonsilas cecales. La bolsa de Fabricio se localiza en la cavidad pelviana, sobre la porción dorsal de la cloaca, caracterizada por una forma esférica de consistencia suave. En el conejo en el tejido subcutáneo de la región submandibular se observan los linfonodos submandibulares, al igual que en otras zonas como la braquial, mesentérica e inguinal entre otras. El timo se aprecia como una estructura rosada de apariencia glandular en el mediastino pulmonar. El bazo se localiza sobre la curvatura mayor del estomago con una apariencia de lengua de color purpura. En el pez al separar el opérculo izquierdo, bajo este se puede apreciar el timo de forma ligeramente nodular sobre los arcos de las branquias en su porción craneal. El riñón anterior localizado sobre la porción vertebral anterior ventralmente a la aorta dorsal, el cual muestra una apariencia marrón rojiza. El bazo de forma ligeramente ovoide se localiza en la cercanía del estomago y el hepatopáncreas. Posteriormente se extraen los órganos linfoides de cada especie estudiada, para su reconocimiento.

La disección de los órganos linfoides y su reconocimiento se efectuara bajo una lámpara de observación con lupa de 15X aumentos. Para efectuar su disección de cada uno al realizar un corte en su eje longitudinal, con la ayuda de las tijeras de Allis. El intestino en la porción del yeyuno e íleon en el mamífero, se abre por el lumen, en dirección longitudinal para apreciar las placas de Peyer. El reconocimiento de los órganos linfoides en su forma y estructura se efectuara a nivel macroscópico bajo la lupa.

De los distintos órganos linfoides identificados se deberá realizar una punción con aguja delgada para depositarlo sobre una laminilla, mientras que con otra se extenderá para permitir su tinción e identificación microscópica posterior.

De los distintos animales se deberá obtener una muestra de sangre con EDTA de donde se realizará un extendido sanguíneo que se conservará en refrigeración hasta la siguiente práctica para su observación



## Resultados:

Los linfonodos se reconocen por su íleo y forma nodular aplanada de color ligeramente rosado, el bazo la apariencia liza de la capsula y su consistencia ligeramente firme, al compararse entre las distintas especies estudiadas. El timo de apariencia lobulada se aprecia mejor en el mamífero y su distribución en rosario en las aves comparten su apariencia glandular. La bolsa de Fabricio de color cremosos, en su porción interna muestra folias con apariencia de gajos. Las placas de Peyer son ligeramente más fáciles de reconocer en el conejo, que en las aves, las tonsilas cecales solo se palpan como ligeros nódulos y bajo la lupa se perciben como un ligero abultamiento, debido a la edad de las aves. En el pez el riñón es friable y de apariencia ligeramente pulposa.

**RECOMENDACIONES** Es necesario observar la edad y peso aproximado de las especies requeridas para facilitar la identificación y reconocimiento de los órganos linfoides. Observar los derechos de los animales y los criterios de bioética para un estudio propio de los animales donadores en el aprendizaje del dicente.

## Cuestionario:

1. ¿Cuáles son las principales funciones de los órganos linfoides primarios y secundarios .
2. Dibuje y señale los principales órganos linfoides observados en mamíferos
3. ¿Tienen las aves nódulos linfáticos? Describa cómo son estos.

Observaciones sobre el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente)

La sujeción y eutanasia se realizará en consideración a los criterios de la bioética y con lo establecido en la NOM-033-ZOO-1995.

Esta práctica se debe realizar en el CIESA en los laboratorios de la FMVZ, Posta Zootécnica, HVGE y HVPE, así como en CEMEGO.



Unidad	Número de la práctica
Introducción a la inmunología	2

**Objetivo o competencia de la práctica:**

Toma de muestra sanguínea para obtener suero. cubre el contenido 1.2.5 de la guía pedagógica

**Materiales, reactivos y/o equipo:**

- Tubos con EDTA y sin aditivo (3 o 5 ml)
- Jeringas de 5 a 10 ml
- Rasuradora
- Alcohol y torundas para asepsia local
- Refrigerante
- Gradilla para tubos de ensaye
- Hielera para el transporte de muestras

**Desarrollo:**

En esta práctica se obtendrá sangre de los sitios comúnmente utilizados para este fin en las diferentes especies domésticas.

**Consideraciones generales para la toma de muestras de sangre:**

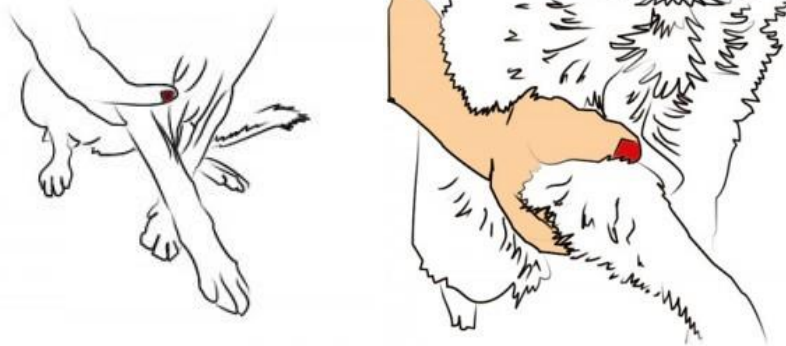
- Se debe rasurar con una máquina eléctrica con cuchilla del número 40 o al menos 10 para obtener una depilación adecuada
- No colocar el bisel de la aguja hacia abajo pues imposibilita el paso de sangre.
- No usar agujas húmedas ya que se hemolizan los eritrocitos
- Homogenizar la sangre con el anticoagulante para evitar la formación de coágulos.

1. Vena Cefálica

El sitio que se usa con mayor frecuencia para la extracción de pequeñas cantidades de sangre en el perro, ya que también se aprovecha para la colocación de vías endovenosas.



- a) Se sujeta al animal en posición apropiada para la visualización
- b) Mientras se sostiene el miembro anterior arriba del codo y sujeta la vena con el dedo pulgar (puede apoyarnos otra persona)
- c) Quien extraerá la muestra coge el antebrazo del animal y lo estira, su tirón es resistido por el ayudante que lo atrae en dirección caudal. Esta acción es parte importante de la sujeción ya que ayuda a inmovilizar la vena.
- d) Después de limpiar el área con alcohol y partir el pelo sobre la vena, se hace la inserción en el centro del antebrazo utilizando una aguja calibre 20, 21 de al menos una pulgada de largo, colocando el bisel hacia arriba y con la jeringa y la aguja descansando paralela a la vena. Entonces se atraviesa en un solo movimiento la piel y después la vena.
- e) Una vez que se observa sangre en el aguja se procede a colectar la sangre.



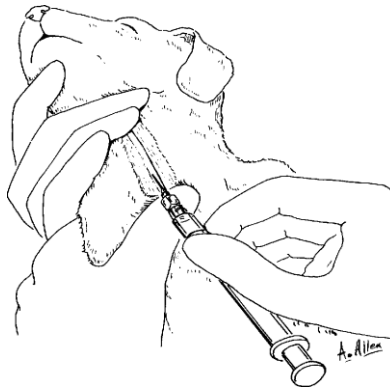
## 2. Vena Yugular

El sitio que se usa más frecuentemente en grandes especies y mamíferos silvestres, y ocasionalmente en animales muy pequeños para obtener suficiente volumen de sangre.

- a) Con el perro sentado, un ayudante detiene la mandíbula inferior con una mano y le voltea la cabeza hacia arriba y ligeramente de lado. El operador coloca el pulgar de la mano izquierda en el surco yugular para ocluir y anclar la vena yugular, mientras manipula la jeringa y la aguja con la mano derecha.
- b) una vez resaltado el vaso sanguíneo se procede a la punción en dirección cráneo-dorsal siguiendo al canal yugular.



Las venas se localizan más fácilmente cuando se fricciona el sitio de la punción con alcohol.



### Identificación de las muestras

La identificación de las muestras es de primordial importancia para el laboratorio y debe estar acompañada de la siguiente información:

- Nombre, dirección, correo-e, teléfono del propietario y del médico.
- Especie, raza, sexo, edad e identificación o nombre del animal o animales.
- Cuadro clínico
- Historia clínica que incluya, tiempo de afección, terapias en su caso, *status* vacunales
- Tipo de muestra, fecha y hora de la toma.
- Diagnóstico presuntivo.
- Observaciones
- Estudio o estudios solicitados

Las muestras deben tomar temperatura ambiente antes de refrigerar, y al momento de refrigerar, evitar el contacto directo del tubo con los geles refrigerantes y más si estos se encuentran congelados.

En Bovinos, caprinos y ovinos también puede tomarse la muestra en la vena coccígea ventral mientras se contiene al animal de manera física, en los caballos se prefiere la punción yugular, mientras que en los cerdos la vena auricular externa es la más accesible para este fin.

**Resultados:**

Se espera que cada equipo obtenga sangre suficiente para realizar los estudios hematológicos que cubrirán la identificación de leucocitos en frotis sanguíneo, así como sangre para separar suero y realizar algunas mediciones, las muestras colectadas en tubos con EDTA serán útiles para la práctica de observación de linfocitos y fagocitos en sangre periférica, la sangre colectada en tubos rojos, permitirá la obtención de suero previa centrifugación.

**Cuestionario:**

1. Discuta las diferencias en la dificultad para obtener la muestra de acuerdo a la especie seleccionada
2. Identifique las características anatómicas que faciliten la decisión del sitio de punción
3. ¿de qué otros sitios se pueden obtener células para su observación y análisis?

**Observaciones y eliminación:**

La muestra debe conservarse refrigerada para la realización de la siguiente práctica de identificación microscópica, preferencialmente realizar tres o cuatro extendidos sanguíneos y secarlos al aire para su tinción.

La toma de muestra debe ser colectada tal como lo indica la técnica, previo rasurado y asepsia de la zona a puncionar, manejando apropiadamente al animal. Las laminillas teñidas pueden ser eliminadas como cualquier cristal, el sobrante de sangre debe eliminarse en una bolsa roja específica para RPBI's, reportar en la bitácora correspondiente el volumen o peso generado de sangre.

Esta práctica se debe realizar en el CIESA en los laboratorios de la FMVZ, Posta Zootécnica, HVGE y HVPE, así como en CEMEGO.



Unidad	Número de la práctica
Introducción a la inmunología	3

**Objetivo o competencia de la práctica:**

Identificación de linfocitos y fagocitos. cubre el contenido 1.2.6 de la guía pedagógica

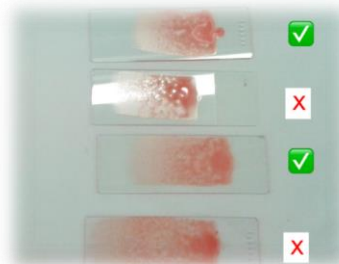
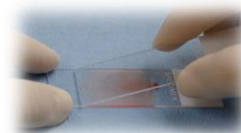
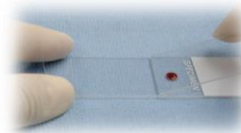
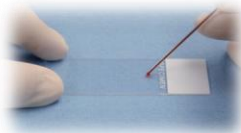
**Materiales, reactivos y/o equipo:**

- Sangre con EDTA
- Microscopio
- Solución de Turk (ácido acético glacial 3ml, violeta de genciana al 1% 1ml, agua destilada c.b.p. 100 ml)
- Laminillas
- Colorante rápido de tipo Romanowsky
- Aplicación tecnológica para realizar diferencial.

**Desarrollo:**

**Técnica para realizar la identificación celular**

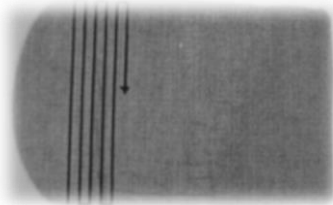
1. Hacer una extensión de sangre bien mezclada con sangre con anticoagulante EDTA o capilar con el método de atraer y arrastrar.
2. Seque rápidamente al aire o en una corriente de aire tibio.
3. Tiña el frotis con la técnica indicada en el apartado de tinciones soluciones.
4. Formas incorrectas de extendido de frotis:



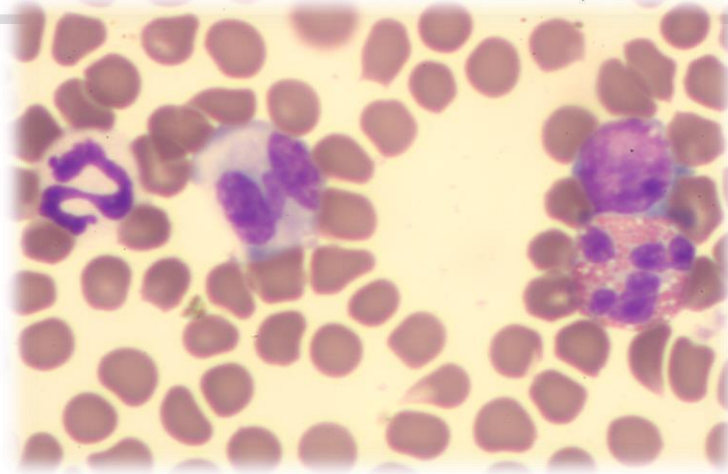


### *Examen microscópico*

- En 10x examinar calidad global del frotis, color y distribución de células, la formación de rodillos por los eritrocitos o la aglutinación de los mismos, debe revisarse con rapidez en busca de cualquier célula anormal grande o incluso parásitos inesperados.
- En 40x se selecciona la zona correcta del extendido donde se debe iniciar el recuento y evaluar la morfología celular. Para ello se selecciona el área en la que los eritrocitos estén superpuestos de 2 a 3 pero que la mayoría estén separados entre sí.
- En 100x se coloca una gota de aceite de inmersión y se enfoca con este objetivo.
- El barrido del frotis debe hacerse en forma de almendra para lograr que la observación sea representativa como se muestra en la figura siguiente.



- Es importante incluir los bordes laterales para incluir las células más grandes como monocitos, linfocitos reactivos y células inmaduras.
- También se informan anomalías de leucocitos, granulaciones tóxicas (se informan como ligeras a marcadas o 1+ a 3+), cuerpos de Döhle, linfocitos reactivos (pueden reportarse como porcentajes o como aislados o abundantes).



**Resultados:**

Los resultados deberán expresarse numéricamente en el formato de unidades internacionales,  $\times 10^9/L$ , donde deberá detectarse y nombrarse apropiadamente las alteraciones leucocitarias observadas. El reporte deberá ser por equipo.

**Cuestionario:**

4. Discuta las diferencias funcionales de cada linaje de leucocitos
5. Identifique las características morfológicas que permiten diferenciar los mononucleares sanguíneos
6. ¿de qué otros sitios se pueden obtener células para su observación y análisis?

**Observaciones y eliminación:**

La toma de muestra debe ser colectada tal como lo indica la técnica, previo rasurado y asepsia de la zona a puncionar, manejando apropiadamente al animal. Las laminillas teñidas pueden ser eliminadas como cualquier cristal, el sobrante de sangre debe eliminarse en una bolsa roja específica para RPBI's, reportar en la bitácora correspondiente el volumen o peso generado de sangre.

Esta práctica se puede realizar en los laboratorios de prácticas de la FMVZ, el laboratorio de hematología en el CIESA o en el Laboratorio clínico del HVPE



Unidad	Número de la práctica
Respuesta inmune e inmunidad adquirida	4

**Objetivo o competencia de la práctica:**

Evidenciar la presencia de anticuerpos aglutinantes específicos a *Salmonella* sp. en muestras sanguíneas de aves, cubre el contenido 3.6.3 de la guía pedagógica

**Materiales, reactivos y/o equipo:**

Placa de vidrio cuadrículada, aglutinoscopio, centrífuga clínica, micropipetas de 30 a 50 µl, puntas de plástico amarillas, palillos de madera, reloj marcador de tiempo, guantes de cirujano, suero sanguíneo de aves, antígeno K polivalente, suero control positivo, suero control negativo, detergente, desinfectante hipoclorito al 1%, bolsas de basura.

**Desarrollo:**

Los sueros y el antígeno deberán estar 30 minutos a temperatura ambiente antes de realizar la prueba y no deberán estar hemolizados ni contaminados.

1. Colocar 30 µl de suero en cada cuadro de la placa de vidrio.
2. Mezclar el antígeno del frasco y depositar 30 µl casi junto a cada suero que se encuentra en cada uno de los cuadros.
3. Mezclar el suero más el antígeno con movimiento de rotación, utilizando un palillo para cada suero.
4. Mezclar por rotación manual la placa durante 1 a 2 minutos y realizar la lectura en un aglutinoscopio.

**Resultados:**

Lectura e interpretación

Reacción negativa: Se observa un color azul uniforme y ausencia de grumos.

Reacción positiva: Se observa la presencia de grumos o “aglutinación” desde ligera a gruesa.

Esta práctica se puede realizar en los laboratorios de prácticas de la FMVZ, el laboratorio de hematología en el CIESA.



Unidad	Número de la práctica
Inmunopatología	5

**Objetivo o competencia de la práctica:**

Prueba de intradermorreacción (Tuberculina).

- A. Detectar animales positivos a la tuberculosis mediante esta prueba.
- B. Para confirmar o descartar animales reactivos a la prueba caudal.  
Cubre el contenido 4.8 de la guía pedagógica

**Materiales, reactivos y/o equipo:**

- Overol
- Botas de hule
- Cuerdas de sujeción
- Jeringas de Tuberculina estériles, en buen estado de 1.0 ml graduada en 0.1 ml. con agujas calibre 24 a 26 de 0.5 a 1.0 ml de largo
- Caja de poliuretano con refrigerantes
- Libro de anotaciones
- Reactivo PPD bovino
- Reactivo PPD aviar
- Placebo: Sol Sal Fisiológica estéril o en su caso solución de ácido tricloroacético al 5% como control didáctico positivo.
- Unidad de producción de bovinos productores de leche o de carne mayores de 6 meses, en la Posta Zootécnica de la Facultad de MVZ. o alternativamente en aproximadamente 5 km en el entorno de la Facultad, Municipios de Taborá o en Sta Juana.

**Desarrollo:**

*A. Prueba Caudal*

1. Bajo las normas de manejo y bienestar animal, inmovilizar al animal.
2. Limpiar la zona del pliegue ano caudal en donde se aplicará el biológico.
3. Insertar la aguja en toda su longitud vía intradérmica en un ángulo de 45° e inyectar 0.1 mL de tuberculina. Deberá aparecer un pequeño abultamiento en el sitio de la aplicación.



Reacción placebo: siguiendo el mismo procedimiento se aplicará 0.1 mL de la solución de ácido tricloroacético para producir una reacción inflamatoria similar a la de la tuberculina con fines didácticos de interpretación de la reacción positiva.

### *B. Prueba cervical comparativa*

1. Rasurar el tercio medio superior del cuello siguiendo las siguientes instrucciones:
2. El primer sitio de inoculación o superior es 10 cm debajo de la cresta del cuello.
3. El segundo sitio de inoculación o inferior es 13 cm debajo del anterior.
4. Levantar un pliegue de piel del centro de las áreas rasuradas y medir el grosor de estos mediante un cutímetro vernier o pie de ángel.
5. Los valores del grosor de la piel obtenidos se deben redondear bajo el siguiente criterio: 6.2 baja a 6.0 cm; 6.3 sube a 6.5 cm; 6.7 baja a 6.5 y de 6.8 sube a 7.0 y se registran los valores en el cuaderno de anotaciones.
6. Utilizando jeringas diferentes, inocular por vía intradérmica 0.1 mL de PPD aviar en el sitio superior.
7. De la misma manera, inocular 0.1 mL de PPD bovino en el sitio inferior.

Realizar la lectura de la prueba a las 72 horas post inoculación (más o menos 6 horas) y detectar la presencia o ausencia de signos de inflamación y dolor en el sitio de inoculación.

## **Resultados:**

Lectura e interpretación

### **A. Prueba caudal:**

A las 72 horas post inoculación, (más o menos 6 horas) observar y palpar cuidadosamente el sitio de la aplicación

Reacción Negativa: Cuando no se observa y a la palpación ningún cambio en la piel del sitio de inoculación.

Animal Reactor (Reacción Positiva): Cuando es visible y a la palpación existe cualquier engrosamiento: rubor, calor dolor o necrosis del tejido en el sitio de inoculación.

### **B. Prueba cervical comparativa**

Realizar la lectura de la prueba a las 72 horas post inoculación (más o menos 6 horas) y detectar la presencia o ausencia de signos de inflamación y dolor en el sitio de inoculación.



1. Cuidadosamente observar y, medir con el cutímetro el grosor de piel para interpretar las reacciones y anotar los resultados.
2. Sustraer el valor de la primera lectura de la segunda.
3. Graficar los valores obtenidos del PPD aviar y del PPD bovino y el punto de intersección dará el resultado de la prueba.
4. De acuerdo a la gráfica se interpretaran los resultados.

Recomendaciones: La prueba se debe efectuar dentro de 10 días posteriores a la prueba caudal y por una sola vez, o transcurridos 60 días.

La finalidad de esta prueba es determinar si la reacción inflamatoria es por la infección de *M. bovis* o por otras micobacterias como *M. avium* y sub especies como paratuberculosis. La prueba será negativa si el grosor de la zona del PPD aviar es menor o igual al del PPD bovino. Prueba sospechosa si el grosor entre estas es de 1 a 4mm. Prueba positiva si el grosor de es mayor a 4mm con respecto al PPD aviar (OIE Código de animales terrestres ,2009; Ver NOM-031-ZOO-1995. Campaña nacional contra la tuberculosis bovina (*Mycobacterium bovis*))

La prueba siempre debe realizarse por un MVZ certificado, así como para realizar la lectura.

#### **Cuestionario:**

1. ¿por qué es útil realizar esta prueba para identificar a los animales seroreactivos?
2. ¿Por qué es necesario hacer una prueba diferencial en los anteriores?
3. ¿Cuál es el principio inmunológico que hace útil esta prueba para el diagnóstico?

**Observaciones:** sobre el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente).

Esta práctica se puede realizar en la posta Zootécnica, previa programación de actividades (de preferencia convocar dos grupos simultáneamente)



Unidad	Número de la práctica
Inmunoprofilaxis y terapia inmune	6

**Objetivo o competencia de la práctica:**

Identificación de productos biológicos comerciales en prontuario farmacéutico, esta práctica cubre el contenido 5.4 de la guía pedagógica.

**Materiales, reactivos y/o equipo:**

Vademécum veterinario, Diccionario de especialidades veterinarias PLM, Farmacopea Mexicana y aquellos documentos digitales que contengan descriptores tales como: biológico, vacuna, inmunizante.

**Desarrollo:**

El discente analizará cada uno de los productos que se indiquen como práctica, para identificar los siguiente puntos acerca de las vacunas:

1. Disposiciones comunes
2. Características y condiciones sanitarias
3. Envasado y etiquetado
4. Prescripción
5. Licencia y registro sanitarios

**Resultados:**

El alumnos registrará y entregará individualmente las características antes descritas de 3 productos seleccionados del área veterinaria, preferentemente de productos diseñados para especies veterinarias distintas.



**Cuestionario:**

1. Identifica los principales datos que indican que un producto biológico es seguro
2. Identifica las instancias responsables de la aprobación del producto para su uso en medicina veterinaria en la especie correspondiente.
3. ¿Cuales consideras los requisitos mínimos que debe cumplir un producto para ser puesto en el mercado?

Observaciones sobre el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente)

1. ACUERDO por el que se emiten los lineamientos a que se refiere el artículo 43 del Reglamento de Insumos para la Salud. Cofepris (2007)
2. REGLAMENTO DE INSUMOS PARA LA SALUD Cofepris (2014)
3. [Http://tuxchi.iztacala.unam.mx/cuaed/comunitaria/unidad4/images/Manual\\_devacunacion2008.pdf](http://tuxchi.iztacala.unam.mx/cuaed/comunitaria/unidad4/images/Manual_devacunacion2008.pdf)
4. Boletín OIE, sobre medicamentos y biológicos:  
[http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Publications\\_%26\\_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull\\_2010-1-ESP.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Publications_%26_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull_2010-1-ESP.pdf)

Esta práctica se puede realizar en el aula, ya que solo es observación, o en un laboratorio de prácticas.



Unidad	Número de la práctica
Immunoprofilaxis y terapia inmune	7

**Objetivo o competencia de la práctica:**

Manejo y aplicación de una vacuna; esta práctica cubre el contenido 5.5 de la guía pedagógica.

**Materiales, reactivos y/o equipo:**

- Material biológico 6 perros con propietario clínicamente sanos
- Jeringas de 3 mililitros con 21g (aguja verde)
- Vacunas multivalentes para perro
- Torundas de algodón
- Alcohol 70%
- Hielera con refrigerantes
- Estetoscopio
- Termómetro rectal

**Desarrollo:**

Se analizará el biológico conforme a lo etiquetado por el laboratorio, definiendo si el mismo requiere o no refrigeración, protección de la luz y la vía por la que debe ser administrado.

Los perros preferentemente deben pertenecer a los estudiantes, para evitar estrés por manejo con extraños. Un perro por equipo. El propietario del perro deberá firmar una responsiva para la aplicación de vacunas, así como entregar su carnet de vacunación para agregar la aplicación.

La vacunación se realizará en el área de quirófanos de la FMVZ, para utilizar las mesas

Se realizará una examinación clínica y determinar que los animales se encuentran clínicamente aptos para la vacunación.

De acuerdo a lo requerido por el paciente se procederá a realizar la vacunación (esto deberá analizarse previamente en clase para saber el biológico a utilizar en ese momento)



Se procederá a reconstituir el biológico o cargarlo directamente a la jeringa conforme sea requerido por el producto.

La aplicación de la vacuna se hará de manera subcutánea o intramuscular de acuerdo a lo indicado por el laboratorio.

Se mantendrá al paciente en observación los siguientes 15 a 20 minutos para descartar el desarrollo de reacciones adversas post-vacunales.

### **Resultados:**

El animal deberá ser vacunado de acuerdo a las necesidades epidemiológicas individuales.

Se aplicará la vacuna de acuerdo a las indicaciones del fabricante

El estudiante deberá reportar las complicaciones encontradas durante la evaluación física del paciente.

Explicará el manejo específico del biológico y sus vías de administración.

Generará un reporte de vacunación por escrito para entregar al propietario

El académico será el responsable de firmar el certificado de vacunación de cada animal.

### **Cuestionario:**

¿Por qué es necesario vacunar a los animales?

¿Qué tipos de vacunas de acuerdo a su tecnología de producción están disponibles en México?

¿Qué condiciones médicas deben establecerse antes de realizar una vacunación en un animal?

Observaciones sobre el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente).

Esta práctica se puede realizar en los laboratorios de prácticas de la Posta, CEMEGO o en los HVGE y HVPE



Unidad	Número de la práctica
Inmunología comparada y evaluación de la inmunidad	8

**Objetivo o competencia de la práctica:**

Evaluación de la calidad del calostro, esta práctica cubre el contenido 6.5 de la guía pedagógica.

**Materiales, reactivos y/o equipo:**

**Biológico**

- Calostro fresco en refrigeración tra de suero sanguíneo de ternero recién nacido sin haber recibido calostro
- Una muestra de suero del ternero 24 horas después de amamantarse
- Una muestra de suero de un ternero destetado

**Material de campo**

- Caja refrigerante a 4°C
- Botas de hule
- Bata de laboratorio
- Guantes de látex de cirujano

**EQUIPO Y MATERIAL DE LABORATORIO**

- Calostrometro DO 1.000-1.060
- Probeta de 250 mL.
- Matraz de precipitado de 500mL
- 

La sujeción y manejo de los animales se realizara en consideración a los criterios de la bioética y a lo establecido en la NOM-062-ZOO-1999

**Desarrollo:**

El calostro recién obtenido en un volumen de 500 mL, se conserva en la caja refrigerada de temperiza a 20-22°C y se deposita en el vaso de precipitado para llenar la probeta a 250. se introduce cuidadosamente el lactodensímetro, para observar la densidad del calostro de: 1.040 rojo, amarillo de 1.045-1.050 y verde de 1.050 a 1.060.



### Resultados:

Los tubos de control negativo blanco leche, densidad 1.020; la escala roja es insuficiente o pobre suministro de calostro, la escala amarilla, escala verde mayor de 1.060. La descripción física del calostro es una prueba cualitativamente muestra variaciones para efectuar la calostrometría mediante lactodensímetro. o el calostrometro.

### Cuestionario:

1. ¿Qué factores afectan la calidad del Calostro?
2. ¿Qué Inmunoglobulina está presente principalmente en el calostro?
3. ¿Afecta la aplicación de vacunas a la Vaca la concentración global de Ig en el calostro?

La toma de calostro se hace de forma rutinaria, lo que no implica una agresión al animal. Se recomienda leer las siguientes referencias bibliográficas

Esta práctica se puede realizar en los laboratorios de prácticas de la FMVZ, Posta, CEMEGO y CIESA

1. Kehoe,SL., Jayarao,BH., Heinrihs,AJ.2007. A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices. on Pennsylvania dairy farms. J.Dairy Sci.90: 4108-4116.
2. Pfeiffe,N., McGuire,TA.1977.A sodium sulfite-precipitation test for assessment of calostrual immunoglobulin transfer to calves.JAVMA.170(8):809-811.
3. Quingly,JD. 2002. Absorbtión of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement of replacer. J.Dairy Sci.85(5):1243-1248.



Unidad	Número de la práctica
Inmunología comparada y evaluación de la inmunidad	9

**Objetivo o competencia de la práctica:**

Pruebas de aglutinación para el diagnóstico de la brucelosis. Detectar anticuerpos contra *Brucella* spp. en suero sanguíneo. Esta práctica cubre el contenido 6.6 de la guía pedagógica

**Materiales, reactivos y/o equipo:**

**Material de laboratorio**

- Placa de vidrio
- Aglutinoscopio
- Centrifuga clínica 5,000 rpm
- Micropipeta de 5, 10-50 y de 200 a 1000 µl
- Puntas de plástico de 5, 10-200 y 1000 µl
- Palillos o removedores
- Reloj marcador
- Guantes para cirujano
- Tubos de ensaye de 13x100mm

**Reactivos de laboratorio**

- Suero sanguíneo de animales vacunados
- Suero sanguíneo de animales no vacunados
- Antígeno Br. abortus para prueba de tarjeta al 8%
- Suero control positivo
- Suero control negativo
- Solución hipoclorito de sodio 2%
- Detergente
- Bolsas de polipapel
- Antígeno de Br. abortus para prueba de rivanol
- Solución de rivanol

**Desarrollo:**

Los sueros y el antígeno deberán estar 30 minutos a temperatura ambiente antes de realizar la prueba y no deberán estar hemolizados ni contaminados.

**Prueba Tamiz**

1. Colocar 30 µl de suero en cada cuadro de la placa de vidrio.
2. Mezclar el frasco con antígeno antígeno y depositar 30 µl casi junto, a cada suero que se encuentra en cada uno de los cuadros.
3. Mezclar el suero más el antígeno con movimiento de rotación, utilizando un palillo para cada suero.
4. Mezclar por rotación manual la placa durante 4 minutos y realizar la lectura en un aglutinoscopio.

**Prueba de Rivanol**

1. Colocar los tubos en gradilla, identificar los tubos de 13x100mm y depositar en cada tubo 200 µL de solución de rivanol



2. por cada tubo con solución agregar el suero problema, agitar los tubos durante 20 segundos y dejar incubar a temperatura de laboratorio por 15 a 20 minutos.
3. Centrifugar los tubos a 1500 rpm por 5 minutos.
4. Retirar los tubos de la centrifuga y del sobrenadante, por tubo depositar las cantidades de 80, 40, 20, 10 y 5  $\mu\text{L}$  en cada cuadro de una placa de vidrio cuadrículada.
5. Agregar 30 mL de antígeno de rivanol en cada cantidad de suero depositado.
6. Mezclar la muestra suero antígeno con palillo de madera (uno por cada suero) iniciando con la cantidad de suero más pequeña.
7. Aplicar a la placa de vidrio un movimiento de rotación por 15 segundos e incubar por 6 minutos a temperatura de laboratorio, agitar nuevamente los tubos e incubar otros seis minutos.

## Resultados:

### Prueba Tamiz

#### *Lectura e interpretación:*

**Reacción negativa:** Se observa un color rosa uniforme y ausencia de grumos.

**Reacción positiva:** Se observa la presencia de grumos “aglutinación”, desde ligera a gruesa.

### Prueba de Rivanol

#### *Lectura e interpretación:*

**Reacción negativa:** la mezcla suero y antígeno es de aspecto homogéneo.

**Reacción positiva.** Se observa la formación de grumos.

*Nota: La presentación de grumos en cualquier dilución del suero se considera una muestra positiva. Además se debe consultar la bibliografía en caso de que existan animales vacunados y no vacunados en un hato contra la brucelosis bovina.*



**Cuestionario:**

¿Qué determina la prueba Rosa de Bengala?  
¿cómo se define un caso probable de Brucelosis?

Observaciones sobre el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente)

NOM-031-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina.  
NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales.  
Kindt, T.J., Goldsby, R.A., Osborne, B.A.: 2007. Inmunología de Kuby. Ed. McGraw-Hill. México. Sexta edición. ISBN 13: 978-970-10-6454-2.  
Tizard, I.R.: 2004. Veterinary immunology, an introduction. Saunders, Elsevier, USA. Sevent edition. ISBN 0-7216-0136-7.  
Manual de prácticas de laboratorio de Inmunología, FMVZ de la UAEM.



## Guía de preparación de reactivos y soluciones

### **SOLUCIÓN SALINA FOSFATADA BUFERADA PBS**

Fosfato de sodio dibásico	1.6 g
Fosfato monopotásico	0.510 g
Cloruro de sodio	7.300 g
Agua destilada	c.b.p. 1000 ml
pH	7.1- 7.3

Filtrar a través de papel filtro

Esterilizar por autoclave a 121 °C durante 30 minutos

Guardar a temperatura ambiente

### **ALSEVER**

Glucosa	2.05 g
Citratotrisódico	0.8 g
Acido cítrico	0.05 g
Cloruro de sodio	7.300 g
Agua destilada	c.b.p. 100 ml
pH	6.1

Esterilizar por filtración de 22 µm o a 110 °C durante 20 minutos

Guardar a 4° C y usarlo en proporción 1:1.

### **TRIPAN AZUL AL 1%**

Tripan azul	1g
PBS estéril	c.b.p. 100 ml

Disolver.

Guardar a temperatura ambiente.

### **ALCOHOL 70%**

Etanol	70 ml
Agua destilada	30 ml

Mezclar y colocar torundas de algodón. Guardar en un frasco de boca ancha.

### **HIPOCLORITO DE SODIO AL 2% NaClO (Desinfectante)**

Hipoclorito de sodio (cloralex)	2 ml
Agua corriente	98 ml

Guardar a temperatura ambiente

### **LABORATORIOS PRONABIVE 8PRUEBA BRUCELOSIS)**

Antígeno B. abortus prueba de tarjeta al 8%

Reactivos: Antígeno B. abortus y Solución para Prueba de rivanol al 12%



- Normas Oficiales Mexicanas en Salud Animal:
- NOM-031-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina.
- NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales.
- NOM-013-ZOO-1994. Campaña Nacional contra la enfermedad de Newcastle.
- NOM-033-ZOO-1995. Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres.
- NOM-062-ZOO-1995. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- NOM-063-ZOO-2000. Especificaciones para los biológicos empleados en la prevención y control de las enfermedades que afectan a los animales.
- DERECHOS DE LOS ANIMALES, WHO.
- CÓDIGO DE BIOÉTICA.
- Kindt, T.J., Goldsby, R.A., Osborne, B.A.: 2007. Inmunología de Kuby. Ed. McGraw-Hill. México. Sexta edición. ISBN 13: 978-970-10-6454-2
- Knipe D. M.; Howley P. M. N. 2001. Fundamental Virology. Fourth Edition. Lippincott Williams and Wilkins
- Shuneman Aluja, A. 1986. Procedimiento de necropsia del ave y del conejo.
- Tizard, I.R.: 2004. Veterinary immunology, an introduction. Saunders, Elsevier, USA. Sevent edition. ISBN 0-7216-0136-7