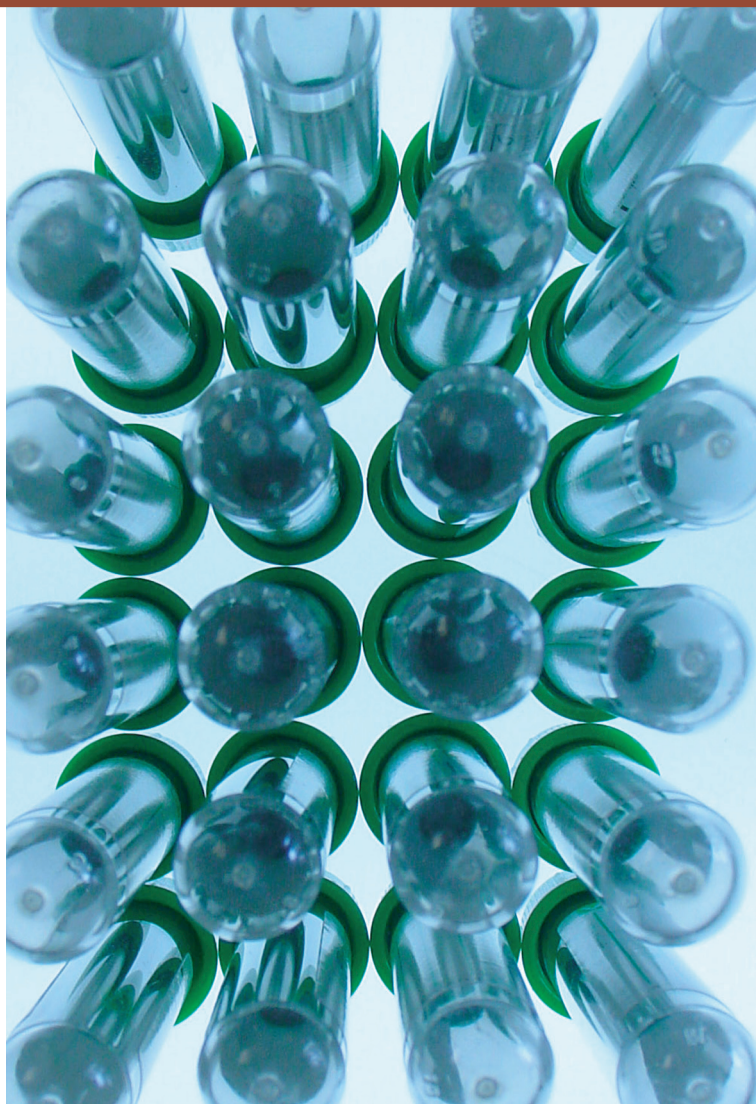


Inmunología

Diagnóstico e interpretación
de pruebas de laboratorio

Heber Orlando Siachoque



Colección Lecciones de Medicina
Universidad del Rosario



UR

INMUNOLOGÍA

Diagnóstico e interpretación de pruebas de laboratorio

INMUNOLOGÍA

Diagnóstico e interpretación de pruebas de laboratorio

Heber Orlando Siachoque Montañez



COLECCIÓN LECCIONES DE MEDICINA

© Centro Editorial Universidad del Rosario
© Universidad Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario
© Facultad de Medicina
© Heber Orlando Siachoque Montañez

ISBN: 958-8225-76-0

Primera edición: Bogotá, D.C., marzo de 2006
Coordinación editorial: Centro Editorial Universidad del Rosario
Corrección de estilo: Leonardo Holguín
Diagramación: Ángela María Echavarría S.
Diseño de cubierta: Ángela María Echavarría S.
Impresión: Cargraphics
Centro Editorial Universidad del Rosario
Calle 13 No. 5-83 Tels.: 336 6582/83, 243 2380
cedir@clauastro.urosario.edu.co

Todos los derechos reservados. Esta obra no puede ser reproducida
sin el permiso previo escrito del Centro Editorial Universidad del Rosario.

SIACHOQUE MONTAÑEZ, Heber Orlando
Inmunología diagnóstico e interpretación de pruebas de laboratorio / Heber Orlando Siachoque
Montañez. Facultad de Medicina.-- Bogotá: Centro Editorial Rosarista, 2006.
133 p. : fot.-(Colección Lecciones de Medicina)
Incluye bibliografía.
ISBN: 958-8225-76-0

Inmunología / Células / Laboratorios clínicos / Técnicas de laboratorio clínico / Técnicas
microbiológicas / Tecnología médica / Sangre - Análisis / Fagocitosis / Toxoplasmosis - Diagnóstico / I.
Título / II. Serie.

NLM QW 504 25

616.079 20

Impreso y hecho en Colombia
Printed and made in Colombia

CONTENIDO

Módulo 1

Separación de componentes celulares y diagnóstico serológico	15
Introducción	16

Capítulo 1

El laboratorio en la clínica	17
1.1. Objetivos	17
1.2. Reacciones de precipitación	17
1.2.1. Inmunodifusión simple	17
1.2.2. Inmunodifusión doble tipo I	17
1.2.3. Inmunodifusión doble tipo II	18
1.2.4. Inmunodifusión radial simple	18
1.3. Inmunoelectroforesis	18
1.4. Aglutinación	18
1.4.1. Aglutinación directa	19
1.4.2. Aglutinación indirecta (pasiva)	19
1.4.3. Aglutinación reversa	19
1.4.4. Hemoaglutinación	19
1.5. Inmunofluorescencia	19
1.5.1. Inmunofluorescencia directa	20
1.5.2. Inmunofluorescencia indirecta	20
1.6. Análisis de inmunoabsorción unida a enzimas (ELISA)	20
1.7. Pruebas de fijación del complemento	20
1.8. Perfil inmunológico	21
1.8.1. Exámenes de un perfil inmunológico	21
1.8.2. Procedimiento	21
1.9. Cuestionario	23

Capítulo 2

Preparación de diluciones y determinación cuantitativa de leucocitos	23
2.1. Objetivos	23
2.2. Materiales	23

2.3. Procedimiento	23
2.3.1. Condiciones para tomar una muestra de sangre	23
2.3.2. Condición de las muestras de suero para pruebas inmunológicas	24
2.3.3. Inactivación	24
2.3.4. Preparación de concentraciones	25
2.3.4.1. Ejercicios	25
2.3.5. Cámara cuenta células	25
2.3.6. Ensayo de recuento de leucocitos	26
2.4. Cuestionario	28
2.5. Informe de laboratorio	28
2.5.1. Resultados	28
2.5.2. Discusión de resultados	29
2.5.3. Conclusiones	29

Capítulo 3

Órganos linfoides	30
3.1. Introducción	30
3.1.1. Órganos linfoides primarios	30
3.1.2. El timo	30
3.1.3. Médula ósea	31
3.1.4. Órganos linfoides secundarios	31
3.2. Objetivos	31
3.3. Materiales	31
3.4. Procedimiento	32
3.5. Órganos linfoides	37
3.6. Cuestionario	37
3.7. Informe de laboratorio	38
3.7.1. Resultados	38
3.7.2. Discusión de resultados	38
3.7.3. Conclusiones	38

Capítulo 4

Suspensiones celulares de timo, bazo y ganglios linfáticos	39
4.1. Separación de poblaciones de linfocitos	39
4.2. Objetivos	39
4.3. Materiales	39

4.4. Procedimiento	40
4.4.1. Suspensiones	40
4.4.2. Suspensión de timo	40
4.4.3. Suspensión de bazo	45
4.4.4. Conteo de células	46
4.4.5. Determinación de viabilidad	46
4.5. Cuestionario	46
4.6. Informe de laboratorio	47
4.6.1. Resultados	47
4.6.2. Discusión de resultados	47
4.6.3. Conclusiones	47

Capítulo 5

Fagocitosis	48
5.1. Introducción	48
5.2. Objetivos	49
5.3. Materiales	49
5.4. Procedimiento	48
5.4.1. Observación de neutrófilos	50
5.4.2. Diferenciación del proceso fagocítico	50
5.5. Informe práctico	51
5.6. Informe de laboratorio	52
5.6.1. Resultados	52
5.6.2. Discusión de resultados	52
5.6.3. Conclusiones	53

Capítulo 6

Separación de linfocitos T	54
6.1. Introducción	54
6.1.1. Separación de linfocitos en gradiente de densidad en Ficoll Isopaque	54
6.1.2. Aislamiento de subpoblaciones linfocitarias: formación de rosetas ..	55
6.1.3. Aislamiento de subpoblaciones linfocitarias: separación en placa	55
6.1.4. Técnica de Elispot	56
6.1.5. Prueba de estimulación de linfocitos	56
6.2. Objetivos	57
6.3. Materiales	57

6.4. Métodos	57
6.5. Cuestionario	58
6.6. Informe de laboratorio	58
6.6.1. Resultados	58
6.6.2. Discusión de resultados	59
6.6.3. Conclusiones	59

Capítulo 7

Técnica de inmunodifusión radial	60
7.1. Introducción	60
7.1.1. Alteración en la concentración de algunas proteínas séricas y su relación con algunas patologías	60
7.2. Objetivo	61
7.3. Procedimiento	61
7.4. Cuestionario	61
7.5. Informe de laboratorio	62
7.5.1. Resultados	62
7.5.2. Discusión de resultados	63
7.5.3. Conclusiones	63

Capítulo 8

Inmunofluorescencia	64
8.1. Introducción	64
8.2. Objetivo	64
8.3. Materiales	64
8.4. Reactivos	64
8.5. Procedimiento	65
8.6. Cuestionario	65
8.7. Informe de laboratorio	67
8.7.1. Resultados	67
8.7.2. Discusión de resultados	67
8.7.3. Conclusiones	67

Capítulo 9

ELISA (enzimoinmunoanálisis)	68
9.1. Introducción	68
9.2. Objetivos	68
9.3. Materiales	68

9.4. Procedimiento	69
9.5. Cuestionario	71
9.6. Informe de laboratorio	73
9.6.1. Resultados	73
9.6.2. Discusión de resultados	73
9.6.3. Conclusiones	74
Talleres de interpretación diagnóstica	74
Taller 1	74
Taller 2	76

Capítulo 10

Electroforesis de proteínas	78
10.1. Introducción	78
10.1.1. Principios de la electroforesis	78
10.2. Objetivos	79
10.3. Técnica	79
10.4. Procedimiento	79
10.5. Electroforesis en agarosa	80
10.6. Cuestionario	80
10.7. Informe de laboratorio	81
10.7.1. Resultados	81
10.7.2. Discusión de resultados	82
10.7.3. Conclusiones	82

Bibliografía Módulo 1	83
Libros de consulta	83
Textos para las clases prácticas	83
Glosario	84
Lista de siglas y acrónimos	85
Normas de bioseguridad	86

Módulo 2

Ensayo de inmunización con péptidos inmunogénicos de *Toxoplasma gondii* como herramienta terapéutica y ayuda

diagnóstica	87
Introducción	88
Objetivos	90
General	90
Específicos	90
Justificación	90
Impacto esperado	91
 Marco teórico	 92
1.1. Toxoplasmosis	92
1.2. Taxonomía	92
1.3. Estructura básica y ciclo de vida	92
1.3.1. Taquizoitos	93
1.3.2. Bradyzoitos y quistes tisulares	101
1.3.2.1. Estado enteroepitelial	104
1.3.3. Oocisto	106
1.4. Respuesta inmune	107
1.4.1. Inmunidad mediada por linfocitos T	107
1.4.2. Papel de los macrófagos y las células NK	108
1.4.3. Activación temprana de LT	109
1.4.3.1. Modulación de la activación de linfocito T	109
1.4.3.2. Regulación de las citoquinas	110
1.4.4. Mecanismos efectores del INFg en la infección por <i>Toxoplasma gondii</i>	110
1.4.4.1. Estructura y función del interferón g	110
1.4.5. Papel del IFNg en la infección por <i>Toxoplasma gondii</i> . Aportes del estudio de la respuesta inmune en el modelo murino	1113
1.4.5.1. Mecanismos efectores del IFNg durante la infección por <i>Toxoplasma gondii</i> . Diferencias entre macrófagos murinos y humanos	113
1.4.5.2. Nuevo mecanismo efector del INFg	115
Diseño metodológico	118
2.1. Materiales y métodos	118
2.1.1. Tipo de estudio y población	118
2.1.2. Criterios de selección	119

2.2. Técnicas de secuenciación y síntesis de péptido	119
2.2.1. Unión del primer aminoácido	119
2.2.2. Desprotección y neutralización	119
2.2.3. Acople del siguiente aminoácido	120
2.2.4. Desprotección y clivaje con HF del péptido con resina	120
2.2.5. Extracción y liofilización	120
2.2.6. Oxidación	120
2.2.7. Diálisis del péptido	120
2.2.8. Marcaje y almacenamiento del péptido	120
2.3. Selección del modelo animal e inoculación de los péptidos	121
2.3.1. Reto con los péptidos	121
2.3.2. Sangrías	121
2.3.3. Reto con los parásitos	121
Variables	122
3.1. Definición de variables	122
3.3.1. Variables independientes	122
3.3.2. Variables controladas	122
Bibliografía Módulo 2	124
Glosario	129
Lista de siglas y acrónimos	130

El acelerado avance de la inmunología ha generado el desarrollo de técnicas que permiten resultados más precisos y de métodos de separación, tanto de componentes celulares como humorales, útiles en el diagnóstico. La presente edición tiene como objetivo proveer las herramientas necesarias para entender estos avances, junto con los mecanismos implicados en el desarrollo de algunas técnicas de diagnóstico inmunológico e interpretación clínica.

Entre los temas tratados se encuentra el estudio de la estructura y fisiología de *Toxoplasma gondii*, que sirve de modelo para la elaboración de péptidos sintéticos de proteínas inmunogénicas y, además, puede ser aplicado en el desarrollo de métodos de diagnóstico en otros parásitos de importancia clínica.

El presente manual ha sido elaborado con el fin de proporcionar una ayuda en el desarrollo de prácticas de laboratorio en inmunología y está dirigido, principalmente, a estudiantes universitarios y trabajadores de las diferentes áreas de la salud como medicina, bacteriología, biología y química.



Universidad del Rosario
Facultad de Medicina

Código de barras