



Optimización de protocolos de producción de anticuerpos policlonales: un ejercicio de innovación educativa

Optimization of protocols for production of polyclonal antibodies: an exercise of educational innovation

Lobato-García Bárbara R¹, Rivera-Ochoa Nayelli¹, Rodríguez-Sánchez Víctor Manuel¹, Rodríguez-Morales Pablo¹, Callejas-Morales Fernando¹, Cervantes-Toache María Cristina¹, Morales-Fierro Carolina¹, Aguilar-Roustand Héctor Alonso¹, Arenas Martínez Diana Gabriela¹, Moreno-Herrera Julissa¹, Barrientos-Sánchez Carlos Daniel¹, Bueno-García Samantha¹, Carmona-Cortés Diana Aurora¹, Lozano Báez Jesús Edgardo¹, Rodríguez-Trujillo Lyzi¹, Ceballos-Grajales Nancy¹, Lara-Lince Luisa Citlalli¹, León-Palmeros Guadalupe Ariana¹, Mendoza Tejeda Diana Yazmín¹, González Herrera Sandra Luz², Juárez Aguilar Enrique³.

Recibido: 25/11/2009 - Aceptado: 12/12/2009

RESUMEN

INTRODUCCIÓN. La enseñanza de las ciencias biomédicas en el nuevo paradigma educativo de la Universidad Veracruzana debe incluir la realización de prácticas de laboratorio que estimulen la curiosidad e interés científico en los alumnos. **OBJETIVO.** El presente trabajo describe un ejercicio de innovación educativa mediante la optimización de dos protocolos de inmunización utilizados en la enseñanza de las bases de la respuesta inmune humoral mediante la obtención de anticuerpos policlonales contra suero humano (Sh) y albúmina de huevo (Ah) en conejos adultos. **MATERIAL Y MÉTODOS.** Se detectaron puntos de mejora en los protocolos en que los alumnos podrían participar en su optimización e implementación. Específicamente, se planteó la optimización de la vía de administración del antígeno y de la vía de obtención de las muestras sanguíneas para la detección de los anticuerpos. Los antígenos fueron administrados en varias dosis por vía subcutánea en el dorso torácico y lumbar de los animales. Cada dosis de antígeno fue inoculada en estas regiones en diferentes puntos (máximo 8) para abarcar una mayor superficie de absorción. Los animales fueron sangrados 20 días después de la primera inmunización mediante la punción de la vena o arteria de la oreja. La presencia de anticuerpos específicos en los sueros inmunes se evidenció *in vitro* mediante la formación de un precipitado como resultado de la interacción antígeno-anticuerpo. Los anticuerpos producidos fueron caracterizados por las técnicas de doble inmunodifusión (DIF), inmunodifusión radial (IDR) e inmunoelectroforesis (IEF).

Palabras clave: innovación educativa, inmunología, anticuerpos, inmunización.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Teaching of biomedical sciences in the new educative paradigm in the Universidad Veracruzana must include laboratory sessions that promotes scientific interest and curiosity in the students. **OBJECTIVE:** The present work describe an exercise of educational innovation through the optimization of two immunization protocols used in the teaching of the basis of humoral immune response throughout the production of polyclonal antibodies against human serum (Hs) and egg albumin (Ea) on adult rabbits. **MATERIALS AND METHODS:** It were detected improvement points in the protocols which could be approached for the students. Specifically, it was proposed to improve the route of antigen administration and the route of sample blood collection. Antigens were administrated subcutaneously in several doses in the chest and the lumbar zone. Each antigen doses were inoculated on these regions in different points (eight maximum) in order to comprise a extense absorption area. Animals were bled twenty days after the initial immunization through puncture of an artery or vein ear. Antibodies detection in the immune sera was revealed *in vitro* through a precipitation reaction as result of antibody-antigen interaction. The antibodies produced were characterized by double immunodiffusion (DID), radial immunodiffusion (RID) and immunoelectrophoresis (IE).

Key words: educational innovation, immunology, antibodies, immunization.

Correspondencia:

Dr. Enrique Juárez Aguilar.
Instituto de Ciencias de la Salud.
Universidad Veracruzana.
enjuarez@uv.mx

¹Alumnos del Laboratorio de Inmunología I, Facultad de Bioanálisis, Universidad Veracruzana.

²Profesor Titular de la Experiencia Educativa Inmunología I Facultad de Bioanálisis Unidad de Ciencias de la Salud. Calle Médicos y Odontólogos S/N, Xalapa, Veracruz.

³Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana. Av. Luis Castelazo S/N. Col. Industrial las Ánimas. CP. 9194, Xalapa, Veracruz.

INTRODUCCIÓN

La innovación educativa es un concepto que ha sido difícil de definir en términos definitivos, sin embargo existe consenso sobre lo que debería ser una innovación educativa efectiva. Así, la innovación educativa es un proceso que consiste en seleccionar, organizar y utilizar de manera creativa los recursos humanos y materiales de maneras nuevas y propias que den como resultado la conquista de un nivel más alto con respecto a las metas y objetivos previamente marcados. De esta manera, la innovación educativa tiene siempre como resultado la optimización del proceso de aprendizaje; sin embargo, la manera en que se implementa esta innovación puede variar. Actualmente, se han descrito tres modelos de proceso para la instrumentación de la innovación educativa: 1) modelo de investigación y desarrollo, 2) modelo de interacción social y 3) modelo de resolución de problemas^{1,2}. Este último modelo es particularmente útil debido a que motiva la participación del sujeto mismo al que va dirigida la innovación.

Se parte de la detección de un problema o necesidad seguido de un diagnóstico para definir una posible solución que es probada y finalmente adoptada. Este modelo también contempla la participación de un agente externo que aconseja a los individuos sobre posibles soluciones y estrategias, sin embargo, las decisiones son tomadas por el usuario final de la innovación.

Asimismo, el modelo de resolución de problemas tiene su principal fortaleza en motivar la participación del usuario final en la toma de decisiones que impactan en su desempeño. El cambio más sólido es el que inicia e interioriza el propio usuario. En este sentido, dado que académicos y alumnos de la Universidad Veracruzana se encuentran actualmente inmersos en un modelo educativo integral y flexible (MEIF), la búsqueda de nuevas estrategias en las que los alumnos puedan no sólo recibir un conocimiento, sino generarla, es prioritaria.

De esta manera, el presente trabajo reporta la optimización de prácticas de laboratorio de la experiencia educativa Inmunología Básica de la Facultad de Bioanálisis de la Universidad Veracruzana utilizando el modelo de resolución de problemas.

Mediante este modelo se impulsó la participación de los alumnos en la mejora de las prácticas de laboratorio, discutiendo el estado actual y el planteamiento de propuestas de mejora, y fomentando su ejercicio en el trabajo de laboratorio y en la comprobación de los beneficios obtenidos. En este trabajo se describe la estrategia para la implementación de la innovación educativa así como los resultados obtenidos con los nuevos esquemas y se realiza una reflexión sobre los resultados de este planteamiento educativo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estrategia de innovación educativa. En primera instancia, realizamos la revisión conjunta de una práctica de laboratorio de la experiencia educativa de Inmunología Básica para identificar puntos de mejora. La práctica de laboratorio consiste en varias sesiones en las que los alumnos van aprendiendo cómo un organismo es capaz de crear una respuesta inmunológica a partir del ingreso de un agente extraño (suero humano y albúmina de huevo) mediante la producción de anticuerpos específicos. A partir de la revisión de la parte teórica, el alumno es capaz de relacionar los conceptos con los fenómenos que observa en el animal de laboratorio. Tomando en cuenta el modelo de resolución de problemas, se realizó una revisión del procedimiento de inmunización de los animales de laboratorio (conejos) entre alumnos (usuarios) y académicos (agente externo); se identificaron dos puntos de posible mejora: 1) el esquema de inmunización de los antígenos y 2) la obtención de las muestras sanguíneas para la demostración de la producción de los anticuerpos. A partir de la revisión bibliográfica de estos temas, los alumnos presentaron propuestas de mejora que fueron incorporadas a las prácticas de laboratorio en cada sesión y discutidas posteriormente.

Materiales. El suero humano fue obtenido por venopunción a partir de sangre sin anticoagulante de un donador sano. La albúmina de huevo y el agar microbiológico fueron obtenidas de Sigma-Aldrich México. Se utilizó Pentobarbital sódico (Anestesal®). Se utilizaron conejos de la raza *Nueva Zelanda* adultos de aproximadamente 4 kg de peso proporcionados por el bioterio de la Facultad de Medicina de la Unidad de Ciencias de la Salud-Xalapa.

Detección de anticuerpos. La detección de los anticuerpos producidos en el suero inmune se lleva a cabo *in vitro* al hacerlo interactuar con el antígeno específico en un tubo de ensayo y la posterior observación de un precipitado como resultado de la unión antígeno-anticuerpo. La concentración del antisuero se mantuvo constante, mientras que el antígeno se hizo reaccionar a diferentes concentraciones (diluciones dobles).

Especificidad. La especificidad de los anticuerpos producidos se evaluó mediante la técnica de doble inmunodifusión (Método de Ouchterlony). Brevemente, se utilizaron placas de Agar al 1%, a las que se les realizaron una serie de perforaciones distribuidas en forma equidistante. Las perforaciones se llenaron con el antisuero y con diferentes diluciones del antígeno y se incubaron a temperatura ambiente de 24 a 48 horas en una cámara húmeda. La formación de una banda de precipitado en la región en la que se unen el anticuerpo y el antígeno demuestra la especificidad del anticuerpo por su antígeno.

Cuantificación del antígeno. La cuantificación del antígeno se realizó mediante la técnica de inmunodifusión radial. Brevemente, el antisero obtenido se mezcla con agar para formar un gel. Se realizan perforaciones distribuidas de manera equidistante y se llenan con diferentes concentraciones del antígeno; se incuban de 24 a 48 horas en una cámara húmeda. Después de la incubación se observan halos de precipitado antígeno-anticuerpo, cuyo diámetro es proporcional a la concentración del antígeno.

RESULTADOS

Como se planteó originalmente, se llevó a cabo una discusión entre académicos y alumnos para definir los aspectos de la práctica de laboratorio que podrían optimizarse. Las modificaciones a las prácticas originales se acordaron por consenso después de una discusión entre los alumnos y de la orientación de los académicos. Los resultados de las prácticas presentados en este trabajo se seleccionaron entre los diferentes equipos de trabajo y se presentan como representativos del total de equipos.

El manejo de los animales

En primera instancia, se trató el aspecto del manejo adecuado de los animales. Si un procedimiento produce dolor o estrés en los animales de laboratorio, las normas internacionales urgen a los usuarios a buscar nuevas alternativas. Tomando en cuenta esta recomendación, se decidió establecer protocolos de inmunización y prácticas de laboratorio que disminuyeran el sufrimiento de los conejos utilizados en la docencia para la producción de anticuerpos contra albúmina de huevo y suero humano. Básicamente, los esfuerzos se orientaron a disminuir el estrés de los animales durante la obtención de la muestra de sangre y durante su inmunización. De esta manera, se decidió incluir dentro del programa de actividades la capacitación mediante un curso breve sobre el manejo, transporte e inoculación de los conejos, proporcionado por el personal responsable del bioterio de nuestra institución.

Las vías de inmunización

Una vez capacitados en el manejo de los conejos, se inició la discusión sobre la mejor vía de inmunización con los antígenos. La inmunización puede realizarse a través de la vía oral, nasal, intramuscular, intravenosa, intracardíaca, subcutánea, intradérmica, intraperitoneal, etc. La elección de la vía depende, entre otras cosas, de la especie animal que se utilice y de las características del antígeno. Originalmente, la vía de inmunización señalada en la práctica era la vía intravenosa³. Esta vía proporciona un contacto inmediato y directo del

antígeno con las células inmunes; sin embargo, la inoculación del antígeno a través de esta vía requiere de amplia experiencia en la canalización de venas o arterias. Dado que los protocolos de inmunización establecían inoculaciones periódicas con los antígenos, el posible fallo de la inoculación por vía intravenosa podría constituir una limitante para la estimulación de una adecuada respuesta inmune. En este sentido, la inoculación de los antígenos por vía intravenosa no es muy adecuada para los fines didácticos que se persiguen con la producción de anticuerpos. Sin embargo, esta vía podría utilizarse exitosamente si fuera precedida de un curso sobre toma de muestras en animales de laboratorio.

Por otra parte, la vía subcutánea es utilizada frecuentemente para la inmunización de antígenos solubles como la albúmina de huevo y el suero humano, por lo tanto se decidió utilizar esta vía para la inoculación de estos antígenos⁴⁻⁶. Para disminuir una reacción local severa y abarcar una mayor superficie de absorción, cada dosis de antígeno fue distribuida en diferentes sitios (máximo ocho) a lo largo del dorso torácico y lumbar. La inmunización subcutánea de los antígenos estimuló una fuerte respuesta de producción de anticuerpos como se demostró en la pruebas de precipitación. En ambos conejos, los inmunizados con suero o los inmunizados con albúmina, se presentó una reacción inflamatoria que llevó a la formación de una costra en la zona de inoculación, que finalmente se descamó sin dejar ninguna lesión posterior. La formación de esta lesión podría estar relacionada con el volumen de la dosis de antígeno inoculada. Sería interesante desarrollar nuevos protocolos para determinar el volumen mínimo necesario para una adecuada producción de anticuerpos sin que se produzcan lesiones importantes. Durante el desarrollo de los protocolos de inmunización ninguno de los animales utilizados presentó fiebre o alteración de su estado general de salud.

Inmunización. La albúmina de huevo fue administrada a una concentración de 50 mg/ml en un amortiguador de fosfatos pH 7.2 en 3 dosis de 2 ml más 1 ml de aceite mineral como adyuvante, cada 6 o 7 días. El suero humano se calentó previamente a 65°C durante 15 minutos para favorecer la agregación de proteínas y se inoculó en 4 dosis crecientes de 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 ml sin adyuvante, cada 3 días. Ambos animales fueron sangrados a los 20 días después de la primera inmunización. Las inyecciones por vía subcutánea se administraron en la región dorsal torácica y lumbar; se evitó inyectar en la región cervical ya que en esta zona se manipula el conejo para su transporte o traslado. Cada dosis de antígeno se administró en sitios diferentes (0.25 ml/sitio) en un máximo de 8 sitios por inmunización⁷⁻¹⁰.

Obtención de las muestras sanguíneas

La obtención de la sangre de los animales de laboratorio se

realiza de diferentes maneras dependiendo de la especie y del volumen requerido. De manera tradicional, la punción cardiaca era utilizada para la obtención de las muestras sanguíneas³. Actualmente, esta práctica está reservada para la obtención de grandes cantidades de sangre en animales anestesiados e involucra el sacrificio del animal. Por otra parte, la obtención de muestras sanguíneas a través de la vena o arteria de la oreja del conejo constituye una vía de fácil acceso y permite la recolección repetitiva de volúmenes de sangre entre 5 y 10 ml, que son suficientes para la realización de las pruebas de caracterización de los anticuerpos. De esta manera, se decidió que la obtención de las muestras sanguíneas a partir de la punción de la oreja del conejo sería la nueva vía a utilizar. El primer sangrado de los animales se realizó previo a la primera inmunización con el objeto de obtener suero sin anticuerpos específicos; dicho suero se utiliza como control en los ensayos de detección y caracterización de los anticuerpos producidos. De acuerdo a lo aprendido en la capacitación para el manejo de animales, los alumnos decidieron realizar una sedación previa al sangrado, utilizando pentobarbital sódico (Anestesal®) como anestésico a una dosis de 40 mg/Kg de peso. Esta dosis sólo tranquiliza y hace más manejable al animal. Más aún, la muestra se obtuvo utilizando agujas de mariposa o vacutainer® a partir de la vena o la arteria de la oreja, la cual es de fácil acceso y produce menos daño al animal que la jeringa tradicional previamente utilizada. Bajo estas condiciones, el porcentaje de éxito para la obtención de la muestra fue de 100% y se obtuvieron volúmenes de entre 5 y 10 ml de sangre. Los animales eran devueltos al bioriterio hasta que estaban completamente recuperados de la anestesia⁴⁻⁶.

Las condiciones establecidas para el sangrado e inmunización de los conejos facilitaron la obtención de antisueros con altas concentraciones de anticuerpos como lo demuestran los títulos alcanzados en las pruebas de precipitación *in vitro* (Figuras 1-3). A partir de estos antisueros fue posible caracterizar la especificidad de los anticuerpos mediante la prueba de doble inmunodifusión (Figura 4) e inmunolectroforesis que demostraron un solo anticuerpo para la albúmina de huevo y 3 o más anticuerpos contra constituyentes del suero humano. Del mismo modo, a través de la inmunodifusión radial (Figura 5) fue posible demostrar el fundamento de los ensayos para la detección y cuantificación de antígenos de interés diagnóstico. De esta manera, la estandarización de los protocolos de inmunización descritos permite la demostración y caracterización de la interacción antígeno-anticuerpo con fines didácticos.

Demostración de la presencia de anticuerpos contra albúmina de huevo

Veinte días después de la primera inoculación, los animales fueron sangrados siguiendo el protocolo previamente

establecido. La formación de un precipitado abundante entre el antígeno y su anticuerpo depende de que las concentraciones de ambos sean equivalentes (zona de equivalencia); el exceso de alguno de éstos disminuye e incluso inhibe la formación del precipitado. Con objeto de determinar la zona de equivalencia del antisuero contra albúmina, se realizó una serie de diluciones dobles de la albúmina como se indica en la figura 1 (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256). En este caso la concentración del anticuerpo permaneció constante. Como se esperaba, concentraciones muy bajas o muy altas del antígeno inhibieron la formación del complejo antígeno-anticuerpo (extremos de la curva). La zona de equivalencia para el anticuerpo anti-albúmina se presentó entre las diluciones 1:16 y 1:32 del antígeno (zona central de la curva, Figura 1). Este resultado demostró que el protocolo de inmunización establecido fue adecuado para la producción de anticuerpos contra esta proteína.

Desplazamiento de la zona de equivalencia

Es sabido que conforme pasa el tiempo, la producción de anticuerpos en los animales inmunizados disminuye, por lo que en un segundo sangrado la concentración del anticuerpo debe ser menor; en consecuencia, la zona de equivalencia se desplaza hacia la izquierda. Para demostrar este fenómeno, se obtuvo una segunda muestra de antisuero anti-albúmina 49 días posteriores a la primera inoculación y se realizó el mismo experimento con las diferentes concentraciones de albúmina. Como se observa en la Figura 2, la zona de equivalencia para este anticuerpo se desplazó hacia la izquierda, demostrando que la concentración del anticuerpo había disminuido y que ahora la zona de equivalencia se encontraba con el antígeno sin diluir.

Demostración de anticuerpos anti-suero humano

Para la detección de anticuerpos contra el suero humano se siguió la misma estrategia que para los anticuerpos anti-albúmina. En este caso sólo se analizaron 4 concentraciones del antígeno (antígeno sin diluir y las diluciones dobles: 1:8, 1:16, 1:32). El resultado de la prueba se observa en la Figura 3. La mayor cantidad de precipitado se observó en la dilución 1:32 del suero humano; sin embargo, dado que no se realizaron más diluciones, no se pudo definir la zona de equivalencia para este anticuerpo utilizando el presente método.

Especificidad de los anticuerpos

Todo anticuerpo reconoce de manera específica al antígeno contra el cual fue producido. Para demostrar que los anticuerpos generados reconocen específicamente a sus antígenos, utilizamos el método de doble inmunodifusión o método de Ouchterlony. Éste permite, de la misma manera que la prueba en tubo, definir la zona de equivalencia entre un antígeno y su anticuerpo,

además de que la formación de una banda de precipitado indica un reconocimiento específico del antígeno.

Básicamente, el método de Ouchterlony se basa en la difusión del antígeno y el anticuerpo en un medio semisólido. Al encontrarse en una proporción adecuada se forma el complejo antígeno-anticuerpo que se precipita formando una banda en el agar. La intensidad de la banda es un reflejo de la cantidad de precipitado formado y por lo tanto también puede ser utilizado para definir la zona de equivalencia.

De la misma manera que para la prueba en tubo, el anticuerpo anti-albúmina forma un precipitado cuya intensidad es proporcional a la concentración del precipitado. Para el caso del anticuerpo anti-albúmina, se observó una mayor banda de precipitación en la dilución 1:16, confirmando el resultado previo en la prueba en tubo, mientras que el caso del anticuerpo anti-suero humano presentó una zona de equivalencia entre las diluciones 1:4 y 1:8, los cuales contrastan con la prueba en tubo, que mostró un máximo de precipitado en la dilución 1:32. Por otra parte, la prueba de Ouchterlony para el anticuerpo anti-albúmina demostró una sola banda de reconocimiento y confirmó la especificidad del anticuerpo producido; contrariamente, la prueba para el suero humano demostró al menos 3 bandas de precipitado, sugiriendo la presencia de al menos tres anticuerpos en el antisuero contra el suero humano. La multi-especificidad del antisuero contra el suero humano fue confirmada mediante la técnica de inmunoelectroforesis (datos no mostrados). Mediante esta técnica se identificaron al menos 4 bandas de reconocimiento. La producción de más de un anticuerpo específico contra el suero humano se explica por la composición compleja del mismo. Por otra parte, la inmunoelectroforesis detectó una sola banda de reconocimiento cuando se utilizó el antisuero anti-albúmina.

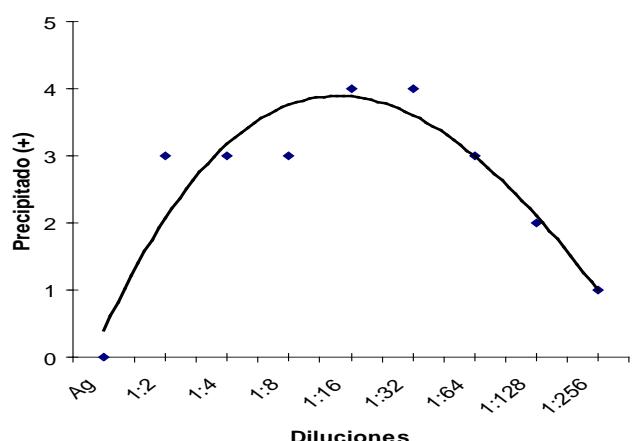


Figura 1. Zona de equivalencia anticuerpo anti-albúmina de huevo. Una serie de diluciones dobles de la albúmina (50 mg/ml) reaccionaron con una concentración constante del antisuero. La zona de equivalencia para este anticuerpo se observó entre las diluciones 1:16 y 1:32.

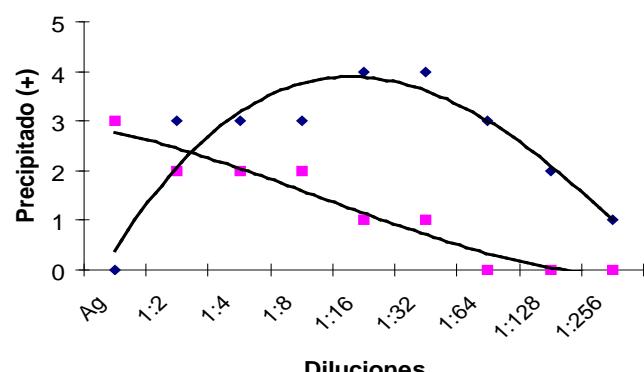


Figura 2. Desplazamiento de la zona de equivalencia. Cuarenta y nueve días después de la primera inmunización se realizó un segundo sangrado del conejo inmunizado contra albúmina de huevo. La detección del anticuerpo se realizó de la misma manera que lo descrito en la Figura 1. Para esta segunda muestra de antisuero la zona de equivalencia se ha desplazado hacia la izquierda (cuadro relleno) con respecto a la curva inicial (rombos rellenos), demostrando una disminución en el título de los anticuerpos.

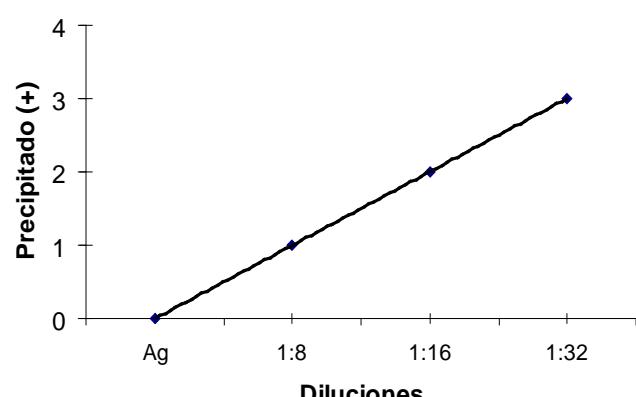


Figura 3. Detección de anticuerpos anti-suero humano. La detección del precipitado antígeno-anticuerpo se realizó del mismo modo que los anticuerpos anti-albúmina. Se analizaron 4 concentraciones del antígeno. Se observa el mayor precipitado con la dilución 1:32 del antígeno.

Inmunodifusión radial

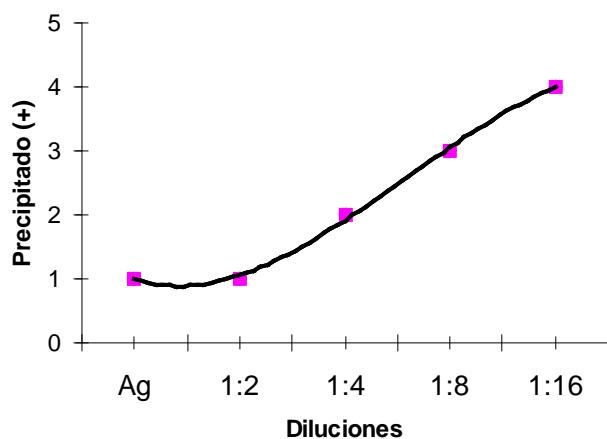
La interacción antígeno anticuerpo también puede utilizarse para la determinación cuantitativa de un antígeno. En la inmunodifusión radial el anticuerpo se encuentra inmerso en un medio semisólido como un gel de agar y el antígeno es colocado en perforaciones a diferentes concentraciones. La aparición de un halo de precipitado demuestra la formación del complejo antígeno anticuerpo, pero además permite la cuantificación del antígeno, ya que la concentración de éste se relaciona directamente con el diámetro del halo formado.

Un primer paso para la implementación de un ensayo cuantitativo utilizando el método de la inmunodifusión radial consiste en la preparación de una curva estándar del antígeno que se quiere cuantificar. De esta manera, dado que conocemos la concentración de la albúmina (50 mg/ml), preparamos una

curva estándar con esta proteína. En la Figura 5 se presentan dos curvas estándar de albúmina. El coeficiente de correlación (R^2) para la curva superior es de 0.8991, mientras que la curva inferior presenta una $R^2=0.9561$. En ambos casos el coeficiente de correlación es adecuado para ser utilizado en la cuantificación del antígeno. Para conocer la concentración de la albúmina en una muestra problema, ésta es colocada en una de las perforaciones del agar con anti-albúmina y el diámetro del halo formado es extrapolado en la curva estándar.

De manera paralela, se realizó el procedimiento de inmunodifusión radial para el suero humano. Evidentemente, la desventaja de esta muestra es que se desconoce la concentración y la identidad de las proteínas contra las que se formaron los anticuerpos, lo cual limita su utilidad como un método cuantitativo. La Figura 6 muestra dos curvas estándar de suero humano con coeficientes de correlación de 0.8372 y 0.9698, respectivamente.

A



B

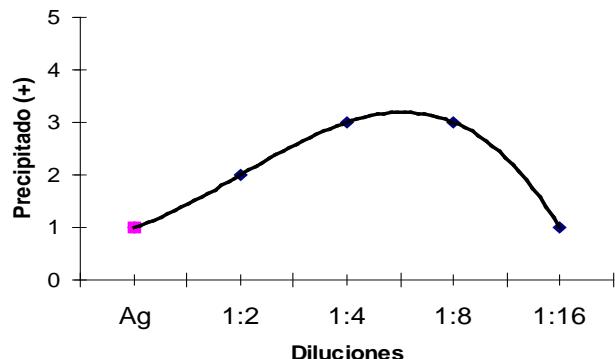


Figura 4. Especificidad de los anticuerpos anti-albúmina (A) y anti-suero humano (B). En una placa de agar con perforaciones se coloca el antisuero con diferentes concentraciones del antígeno. La formación del complejo antígeno-anticuerpo se evidencia por la formación de una banda de precipitación que demuestra la especificidad del anticuerpo por su antígeno. La intensidad de la banda es también un indicador de la concentración del complejo antígeno anticuerpo.

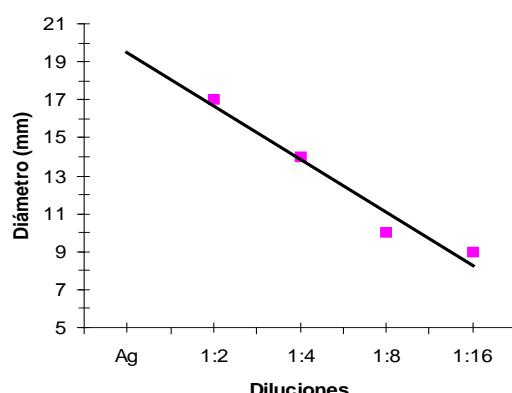
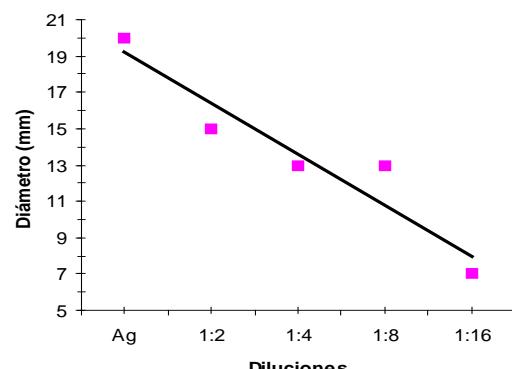


Figura 5. Curvas estándar de albúmina de huevo (50 mg/ml). Los diámetros de los halos formados son elevados al cuadrado y graficados contra la concentración del antígeno.

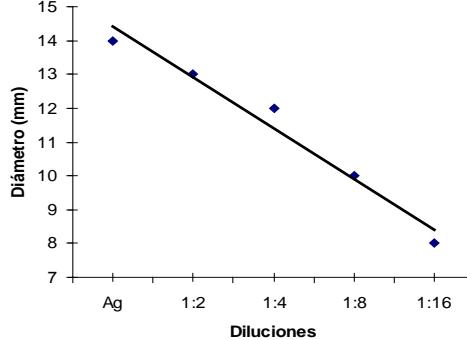
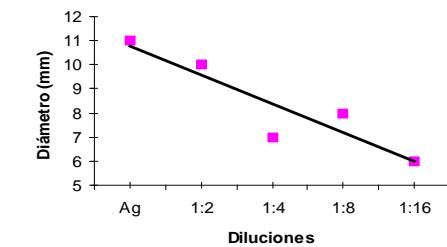


Figura 6. Curvas estándar de suero humano. Los diámetros de los halos formados son elevados al cuadrado y graficados contra la concentración del antígeno. R^2 curva estándar superior =0.8372, R^2 curva inferior= 0.9698.

DISCUSIÓN

La adopción de la Universidad Veracruzana de un modelo educativo integral y flexible ha supuesto el cambio del antiguo paradigma educativo caracterizado por:

- un currículo rígido,
 - un lugar para trabajar, que es el salón de clases,
 - un tiempo establecido para el aprendizaje de carácter fijo y predeterminado,
 - una docencia excesiva, obligatoria y asignada por la institución,
 - un grupo escolar tradicional que determina los mismos compañeros de estudio;
- a un modelo caracterizado por:
- un currículo flexible y con materias optativas,
 - una movilidad del estudiante y por ende del conocimiento que se genera,
 - la diversificación de ambientes de aprendizajes,
 - la adecuación de la educación a los ritmos, condiciones y procesos de aprendizaje de los alumnos,
 - una docencia optativa como apoyo al aprendizaje.

En síntesis, una comunidad de aprendizaje que se desarrolle en ambientes diversos.

Bajo estas nuevas condiciones, se espera un proceso enseñanza-aprendizaje dinámico en el que los actores, profesores y alumnos interactúen en la búsqueda de nuevas estrategias que optimicen el aprendizaje mutuo. En el presente trabajo reportamos un ejercicio de innovación educativa basado en el modelo de resolución de problemas que tiene como eje rector al beneficiario de la innovación, en este caso, al alumno. Partimos de la idea de que el alumno tiene la necesidad no sólo de obtener información o conocimiento, sino también necesidad de aprender a generalizarlo, aprender formas de resolver problemas, plantear soluciones y llevarlas a la práctica. De esta manera y tomando en cuenta la experiencia docente previa, se ofreció a los alumnos de la experiencia educativa Inmunología Básica Laboratorio la oportunidad de proponer mejoras a las prácticas, discutir opciones e implementarlas. En el proceso fue claro que el profesor sólo actúa como un orientador de esta dinámica, acotándola cuando ésta pierde su objetivo, pero dando libertad para la crítica. Los alumnos mostraron un gran interés por mejorar las condiciones y la forma de llevar a cabo su proceso de enseñanza-aprendizaje, manifestando no sólo sus propias necesidades, sino preocupándose por asegurar la continuidad de las mejoras introducidas para beneficio de las futuras generaciones. Aun cuando el resultado concreto de este ejercicio fue la optimización de los protocolos para la producción de anticuerpos políclonales, la innovación educativa a la que nos referimos consistió en la estrategia para motivar las habilidades de reflexión, inventiva, discusión académica, planteamiento e

implementación de soluciones por parte de los propios alumnos. Un beneficio adicional fue la obtención de conejos inmunes para los antígenos probados: suero humano y albúmina, que pueden ser utilizados como controles positivos para futuros grupos de estudiantes. Existen protocolos de inmunización para antígenos particulados como eritrocitos humanos y bacterias (*Salmonella Typhi*) que pudieran optimizarse con el objetivo de probar nuevamente esta innovación educativa.

Tomando en cuenta estos resultados, consideramos que el modelo de resolución de problemas constituye una excelente opción para mejorar las experiencias educativas e integrar a profesores y alumnos dentro del mismo proceso de enseñanza-aprendizaje. De la misma manera, este tipo de estrategias permite organizar y utilizar de manera creativa los recursos humanos y materiales de maneras nuevas y apropiadas que dan como resultado mejores perspectivas para alcanzar las metas y objetivos plasmados en el plan de desarrollo institucional.

Agradecimientos

Agradecemos profundamente la ayuda otorgada por la Q.C. Sofía Ladrón de Guevara Jiménez para la preparación de todos los materiales y reactivos, así como al Sr. Ángel Luis Luna Hernández por la limpieza y mantenimiento del laboratorio. Del mismo modo quisiéramos agradecer a la Q.F.B. Martha Solano Rico, Jefa del Departamento de Laboratorios de la UCS por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo, así como a la Bióloga Mercedes E. Avilés, Responsable del bioterio de la Facultad de Medicina, por la capacitación en el manejo de los conejos y el suministro de los mismos. Igualmente, un agradecimiento al Sr. Rogelio Mixtega por la limpieza y alimentación de los conejos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Huberman AM. Cómo se realizan los cambios en la educación: una contribución al estudio de la innovación. París: UNESCO-OIE; 1973.
2. Havelock RG. y Huberman AM. Innovación y problemas de la educación. Teoría y realidad en los países en desarrollo, Ginebra: UNESCO-OIE; 1980.
3. Carpenter PL. Inmunología y Serología 2a. ed. México: La Prensa Médica Mexicana; 1982.
4. Douglas FA, and Suckow MA. The Laboratory Rabbit. Boca Raton (USA): CRC Press; 1997.
5. Marton B y cols. Extracción de sangre de mamíferos y aves de laboratorio. Primer informe del grupo de trabajo BVA/FRAME/RSPCA/UFAW sobre refinamiento. Anim Lab 1998; 27: 1-22.
6. University of Kentucky Medical Center. Standard operating procedure IACUC 103. Rabbit blood collection protocol. 98 Jun [citado en 2003]; 1 (1): [24 screens]. Disponible en: <http://www.mc.uky.edu/dlar/resources/sop/rabbleed.html>
7. IACUC. Antibody Production in Rabbits. [citado en 2003]; 1 (1): [24 screens]. Disponible en: <http://iacuc.yale.edu/policies/rabbits.html>
8. Bleeding and immunization techniques for polyclonal antibody production. [Citado en 2003]. Disponible en: http://www.molbio.princeton.edu/facility/restricted/viv_restricted/rabbitbleed.html.

9. SUNY Upstate Medical University. Guidelines for the production of polyclonal and monoclonal antibodies in rodents and rabbits. 2001 Oct [citado en 2003]; 1 (1): [24 screens]. Disponible en: <http://www.upstate.edu/dlar/Antibody%20Production.pdf>
10. University of Florida. Guidelines for the production of polyclonal and monoclonal antibodies in rodents and rabbits. [citado en 2003]; 1 (1): [24 screens]. Disponible en: <http://www.health.ufl.edu/acs/infopi/antibodis.html>