UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA

"LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS ANTI-PROTEINAS INTRACELULARES DE ACTINOMICETOS PRODUCTORES DE MICETOMA EN ANIMALES INFECTADOS O INMUNIZADOS"

POR:

Q.F.B. IRMA LORENA MOLINA ESPARZA

Como requisito parcial para obtener el Grado de MAESTRIA EN CIENCIAS con Especialidad en Inmunología.

MONTERREY, N. L., 2002

TM
QR82
.A35
M6
2002
c.1

1080116484

301549

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA

"LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS ANTI-PROTEÍNAS INTRACELULARES DE ACTINOMICETOS PRODUCTORES DE MICETOMA EN ANIMALES INFECTADOS O INMUNIZADOS"

POR:
Q.F.B IRMA LORENA MOLINA ESPARZA

Como requisito parcial para obtener el Grado de MAESTRÍA EN CIENCIAS con Especialidad en Inmunología.

Octubre, 2002

TM
QR82
.A35
M6
2002

B U R Raúl Rangel Frías
UANL
FONDO
TESIS MAESTRIA

LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS ANTI-PROTEÍNAS INTRACELULARES DE ACTINOMICETOS PRODUCTORES DE MICETOMA EN ANIMALES INMUNIZADOS O INFECTADOS

Aprobación de la Tesis:

DR. MARIO CESAR SALINAS CARMONA
Director de Tesis

DRA. ALMA YOLANDA ARCE MENDOZA
Comisión de Tesis

DR. OLIVERIO WELSH LOZANO
Comisión de Tesis

DR. DIONICIO A. GALARZA DELGADO
Subdirector
de Investigación y Estudios de Posgrado

DEDICATORIA

A toda mi familia por brindarme su apoyo y confiar siempre en mi, en especial a mis padres **Ma. Patrocinia Esparza Hernández y Adán Molina Ruíz** ya que sin ellos no seria quien soy.

A **Omar** por apoyarme en todo lo que hago y estar siempre a mi lado.

Y lo más importante a **Dios** gracias por dejarme llegar a alcanzar una meta más en mi vida acompañada de mis seres queridos.

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Mario Cesar Salinas Carmona** por haberme permitido llevar a cabo este trabajo en el departamento de Inmunología bajo su asesoría.

A la **Dr. Alma Yolanda Arce de Mendoza** y el **Dr. Carlos Eduardo Medina de la Garza** por sus sugerencias y haber sido mis maestros.

Al Dr. **Lucio Vera Cabrera y Wendi** del Departamento Interdisciplinario de Dermatología por gentilmente haberme ayudado al principio de este trabajo.

A la **M.C Isabel** y **la Q.F.B. Alejandra** por haberme enseñado y ayudado a realizar este trabajo, además de ser excelentes personas.

A todo el personal que trabaja en el departamento de Inmunología **Dr. Juan Manuel Solís, Dr. Angeles Castro, Dr. Ernesto Torres, Edith, Paty, Aracely, Lizzy, Brenda, Alejandro, Carlitos, Fransisco, Carmelita, Reynaldo y Santana.**

A mis compañeros de generación **Teresa, Ariana, Angélica, Luis Miguel, Blanca, Marcela** y en especial a **Graciela y Adrián** por brindarme su amistad incondicional.

A mis compañeros de laboratorio **Juan Manuel, Lupita, Lissette y Elizabeth** por su compañerismo y amistad.

A las secretarias de postgrado por su trato amable y servicialidad en todo momento en especial a **Norma y Paty**.

A **CONACYT** por el apoyo económico.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. HIPÓTESIS	18
IV. OBJETIVOS	19
V. MATERIAL Y MÉTODOS	20
1.-Material Biológico.	20
1.1 Animales de experimentación	20
1.2 Cepas bacterianas	20
2.-Obtención de la suspensión unicelular de las bacterias	21
2.1 Método de Vaciado en Placa	21
3.-Obtención de los extractos celulares de las cepas bacterianas	22
3.1 Determinación de proteínas por el procedimiento de Bradford.	22
4.Determinación del patrón de proteínas de los extractos celulares de *S. somaliensis* y *A. madurae.*	23
4.1 Tinción de Coomassie	23
4.2 Tinción argéntica.	24
5. Infección de los animales con *Streptomyces somaliensis Actinomadura madurae* y *Nocardia brasiliensis.*	24
5.1 Infección de ratones BALB/c	24
5.2 Infección de ratas Lewis	24
5.3 Infección de conejos Nueva Zelanda	25

6. Inmunización de los animales con *Streptomyces somaliensis* *Actinomadura madurae* y *Nocardia brasiliensis.* 25

6.1 Inmunización de Ratones BALB/c 25

6.2 Inmunización de Ratas Lewis 25

6.3 Inmunización de Conejos Nueva Zelanda 25

7. Identificación de la respuesta de anticuerpos contra antígenos proteicos de *Streptomyces somaliensis, Nocardia brasiliensis* y *Actinomadura madurae* en las diferentes especies de animales infectados o inmunizados. 26

7.1 Obtención de los sueros 26

7.2 Inmunoelectrotransferencia 26

7.2.1. Electroforesis en gel SDS-PAGE en gradiente 8.75%-18% en condiciones desnaturalizantes. 26

7.2.2. Transferencia de los extractos celulares bacterianos a papel de nitrocelulosa 27

7.2.3. Inmunoelectrotransferencia revelada con sueros de animales inmunizados o infectados con *A. madurae, S. somaliensis* y *N. brasiliensis.* 27

8. Identificación de reacciones cruzadas entre los sueros anti- *A. madurae, S. somaliensis* y *N. brasiliensis.* 28

VI. RESULTADOS 29

1. Obtención de la suspensión celular bacteriana. 29
2. Obtención de los Extractos Celulares Bacterianos. 29
3. Determinación del patrón de proteínas del extracto proteico de *Streptomyces somaliensis* y *Actinomadura madurae.* 30
4. Infección de animales con los extractos celulares bacterianos 31

5. Determinación de la respuesta inmune humoral de los inmunizados o infectados mediante inmunoelectrotransferencia. 32
6. Identificación de reacciones cruzadas entre los sueros anti- *A. madurae, S. somaliensis y N. brasiliensis.* 40

VII. DISCUSIONES 46
VIII. CONCLUSIONES 51
IX. REFERENCIAS 52
X. LISTA DE ABREVIATURAS 59
XI. APÉNDICE 60
XII. TABLAS 64
XIII. GRÁFICAS 70