

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



**Manual de Prácticas:
Toxicología**

Elaboró:	Dr. Benjamín Valladares Carranza	Fecha:	09/01/2018
	Dra. Esvieta Tenorio Borroto		
	MVZ. Salvador Lagunas Bernabe		

Fecha de aprobación	H. Consejo Académico	H. Consejo de Gobierno
	29/10/2018	29/10/2018



Índice

	Pág.
I. Datos de identificación	1
II. Introducción	2
III. Lineamientos	3
IV. Organización y desarrollo de las practicas	
Práctica 1. Determinación de metales pesados en muestras biológicas (cualitativa).	4
Determinación de metales pesados en muestras biológicas (Cuantitativa).	6
Práctica 2. Detección de compuestos organoclorados en muestras biológicas.	8
Práctica 3. Detección de compuestos organofosforados en muestras biológicas.	10
Práctica 4. Detección de estricnina en muestras biológicas.	12
Práctica 5. Detección de warfarina en muestras biológicas.	14
Práctica 6. Detección de nitratos en muestras biológicas.	16
Práctica 7. Detección de urea en muestras biológicas.	18
Práctica 8. Evaluación del efecto hemolítico de las saponinas en eritrocitos.	20
Práctica 9. Detección de aflatoxinas en muestra biológicas.	25
Practica 10. Detección de clenbuterol en muestras clínicas.	27
V. Bibliografía	29



I. Datos de identificación

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

Licenciatura **Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Unidad de aprendizaje **Toxicología** Clave **L43864**

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

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

Seriación **Ninguna** **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

N/A



II. Introducción

En la unidad de aprendizaje de toxicología deben incluirse los principios de los ensayos biológicos que se realizan para evaluar toxicidad y la forma de proceder de su ejecución. En este caso es necesario que se expliquen y apliquen las diferentes categorías de ensayos toxicológicos, el valor y las limitaciones de los parámetros utilizados para evaluar la toxicidad de los compuestos extraños, así como la utilidad de las pruebas funcionales, vinculando estas últimas con conocimientos de Fisiología, al analizar las funciones afectadas; de Bioquímica Clínica en la selección de los métodos a utilizar y de Bioquímica de la Nutrición, en la evaluación de defectos abortivos.

En este aspecto deben realizar en los laboratorios evaluaciones de toxicidad aguda, de interacciones entre compuestos extraños, demostrativas del metabolismo y de selectividad en la acción tóxica, utilizando en este último caso las diferencias entre especies.

Al explicar el mecanismo de acción de los compuestos extraños, debe diferenciarse entre inespecífico y específico, haciendo énfasis en este último en la relación estructura-actividad y la presencia de receptores en el plano celular. Puede utilizarse como ejemplo la inhibición de la acetil-colinesterasa por los plaguicidas organofosforados que, además de explicarse teóricamente, debe consolidarse con la demostración en el laboratorio cuando se explique la absorción, el metabolismo y la excreción de los compuestos extraños, y deben hacerse generalizaciones que permitan al estudiante aplicar esos conocimientos al estudio de compuestos particulares.

En la Toxicología Aplicada, cuando se realice el estudio de compuestos particulares, deben señalarse solamente las diferencias que existan con respecto a los mecanismos generales y favorecer la participación de los estudiantes en la aplicación de los mecanismos estudiados para las diferentes estructuras químicas.

Las prácticas de laboratorio deben comprender, tanto los métodos generales para aislar las sustancias del material biológico, la identificación mediante reacciones de grupo, reacciones de orientación y exclusión y las reacciones más específicas para los compuestos, como los métodos directos; estas deben realizarse cuando se hayan impartido los conocimientos técnicos relacionados con los grupos de compuestos a investigar.



III. Lineamientos

Mencionar los lineamientos que aplica, según espacio que corresponda.

En el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.

1. Queda restringida de manera estricta la entrada a toda persona ajena al área sin autorización.
2. Se requiere el uso de equipo de protección personal (bata, mandil, guantes, googles, respirador; campana de seguridad para extracción de gases: nivel II).
3. Identificar todos los recipientes indicando su contenido y peligrosidad, así como verificar su almacenamiento de los mismos, de acuerdo a sus características físicas y químicas (Anexos).
4. No introducir muestras orgánicas de gran volumen al laboratorio.
5. Transportar las muestras al laboratorio en recipientes herméticos que aseguren la integridad de las muestras, del personal y el ambiente.
6. El área debe contar con un sistema de ventilación para extraer los gases producidos por las sustancias y reactivos en uso.
7. Se requiere de una cámara de seguridad nivel II, para la manipulación de reactivos tóxicos. Utilizar material y equipo de protección adecuado para cada proceso.
8. Evitar el exceso de sustancias corrosivas, flamables y tóxicas.
9. Verificar el almacenamiento e identificar todos los desechos químicos de acuerdo al anexo III, IV y V.
10. El lavado y esterilización de material se realizara en el área de lavado bajo las especificaciones correspondientes del área.
11. El responsable del área verificara que su área de trabajo cuente con las señalizaciones de restricción, contenedores, señales de advertencia, equipo y ropa de protección personal.
12. El responsable del área registrara la cantidad de desechos originados de sustancias y reactivos, así como el recipiente y lugar de almacenamiento, el tratamiento o inactivación y la disposición final.



IV. Organización y desarrollo de las prácticas

Unidad	Número de la practica
Unidad 2. Principales intoxicaciones en Medicina Veterinaria.	1 Determinación de metales pesados en muestras biológicas (cualitativa).

Objetivo o competencia de la práctica:

Aplicar las técnicas de laboratorio cualitativas que permitan la confirmación rápida del diagnóstico sugestivo para la integración de un caso clínico.

Analizar situaciones sobre la base de la integración de diferentes elementos y datos experimentales reportados.

Detectar las sustancias tóxicas presentes en material biológico.

Analizar las posibles rutas metabólicas para compuestos extraños basándose en sus estructuras químicas.

Realizar informes de los resultados de los análisis toxicológicos, contemplando todos los aspectos que se exigen para la credibilidad de las conclusiones.

El espacio físico a realizar dicha práctica serán: el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.

Materiales, reactivos y/o equipo:

MATERIAL: Vasos de precipitado, matraz volumétrico, pipeta graduada de 10 mL, agitador de vidrio, mechero de bunsen, placa de cobre, ácido clorhídrico, ácido nítrico, agua destilada, patrones de referencia.

PERSONAL: Bata u overol, mascarilla de vapores o cubre bocas, lentes de seguridad, guantes de plástico, botas y mandil

Desarrollo: De acuerdo al número de estudiantes se organizaran por equipos, en donde los integrantes (estudiantes) realizaran la práctica como se describe, bajo la supervisión del profesor de la unidad de aprendizaje.

Se procede al pesaje de 10 g de la muestra (tejidos, alimento concentrado, forraje o suelo); se depositan en un vaso de precipitado con capacidad de 500 mL y se agregara ácido clorhídrico al 10%; se pone a ebulir durante 30 minutos, previo a la ebullición se agrega una placa de cobre abrillantada con ácido nítrico; posterior a esto se obtiene la placa y se evalúa el cambio de color de la placa de cobre.

Resultados: La información obtenida será analizada y discutida por el discente con sus compañeros y con el docente.

De manera integral se buscara información: clínica y epidemiológica (selección, organización análisis y redacción), actualizada para la elaboración de un informe escrito completo en cada caso, considerando que la información vertida debe ser actual (artículos), que respalde el resultado obtenido (sobre el metal pesado: plomo, arsénico,



mercurio, cadmio o cobre).

Cuestionario:

- 1.Cuál es la finalidad de los ácidos en el procesos de laboratorios en la técnica descrita
2. En la prueba cualitativa, que coloración puede observarse en la placa abrillantada de cobre y de que sería sugestiva
3. De acuerdo al tipo de muestra, selección - cuál es la factibilidad (fundamenta) de encontrar residuos de metales pesados
4. De un organismo vivo, con base al proceso fisiopatológico, que muestras enviarías para análisis toxicológico y bajo que condiciones

La evaluación correspondiente se realizara de acuerdo a:

Presentación del material, equipo y muestras solicitadas.

Habilidad y destreza del discente para la realización de la práctica. Para lo cual es importante considerar el Manejo adecuado del material biológico se disponga con base a la NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.



Unidad	Número de la practica
Unidad 2. Principales intoxicaciones en Medicina Veterinaria.	1 Determinación de metales pesados en muestras biológicas (Cuantitativa).

Objetivo o competencia de la práctica:

Aplicar las técnicas de diagnóstico cuantitativas que permitan confirmar el diagnóstico etiológico.

Analizar situaciones sobre la base de la integración de diferentes elementos y datos experimentales.

Detectar las sustancias tóxicas presentes en el material biológico.

Analizar las posibles rutas metabólicas de los compuestos extraños basándose en sus estructuras químicas.

Realizar informes de los resultados de los análisis toxicológicos, contemplando todos los aspectos que se exigen para la credibilidad de las conclusiones.

El espacio físico a realizar dicha práctica serán: el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.

Materiales, reactivos y/o equipo:

MATERIAL: Tubos de vidrio, mortero con pistilo o licuadora doméstica, pipetas graduadas, perilla, ácido perclórico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, papel filtro, embudos, matraz volumétrico de 25 mL, agua destilada, frascos de plástico y estándares de referencia de metales pesados.

EQUIPO: Balanza analítica, campana extracción de gases, digestor y espectrofotómetro de absorción atómica.

PERSONAL: Bata, mascarilla de vapores o cubre bocas, lentes de seguridad, guantes de plástico, botas y mandil.

Desarrollo: De acuerdo al número de estudiantes se organizaran por equipos, en donde los integrantes (estudiantes) realizaran la práctica como se describe, bajo la supervisión del profesor de la unidad de aprendizaje.

Las muestras serán molidas, pesadas, sometidas a digestión con ácidos y temperaturas inferiores a 100 °C, las muestras se aclararan, y se aforaran a 25 mL con agua desionizada y leídas bajo las especificaciones del fabricante mediante la técnica de absorción atómica.

Resultados: La información obtenida será analizada y discutida por el discente con sus compañeros y con el docente.

De manera integral se buscara información: clínica y epidemiológica (selección,



organización análisis y redacción), actualizada para la elaboración de un informe escrito completo en cada caso, considerando que la información vertida debe ser actual (artículos), que respalde el resultado obtenido (sobre el metal pesado: plomo, arsénico, mercurio, cadmio o cobre).

Cuestionario:

1. Cuál es el fundamento de la técnica de absorción atómica en la detección de metales.
2. Qué medidas deben considerarse al coleccionar una muestra para análisis mediante absorción atómica
3. Para qué sirve la digestión acida, y que tipo de ácidos son los más recomendables para el proceso
4. Qué tipo de "elementos" puede detectarse por absorción atómica, menciona 10 de relevancia actual

La evaluación correspondiente se realizara de acuerdo a:

Presentación del material, equipo y muestras solicitadas.

Habilidad y destreza del discente para la realización de la práctica. Para lo cual es importante considerar el Manejo adecuado del material biológico se disponga con base a la NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.



Unidad	Número de la practica
Unidad 2. Principales intoxicaciones en Medicina Veterinaria.	2 Detección de compuestos organoclorados en muestras biológicas.

Objetivo o competencia de la práctica:

Conocer y aplicar los métodos y técnicas de diagnóstico en intoxicación por compuestos organoclorados a partir de alimentos destinados para animales.

Detectar las sustancias tóxicas presentes en el material biológico.

Analizar las posibles rutas metabólicas para compuestos extraños basándose en sus estructuras químicas.

Realizar informes de los resultados de los análisis toxicológicos, contemplando todos los aspectos que se exigen para la credibilidad de las conclusiones.

El espacio físico a realizar dicha práctica serán: el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.

Materiales, reactivos y/o equipo:

LABORATORIO: Embudo de vidrio tallo corto, Licuadora, Matraz Erlen Meyer de 250 mL, Micropipeta y puntas amarillas, Perlas de vidrio, Placa para cromatografía, vasos de precipitado, probetas, pipetas graduadas, embudos de separación, Balanza analítica, estufa de desecación, platina caliente, lámpara de luz ultravioleta y equipo de cromatografía. Cuarto oscuro.

REACTIVOS Y SUSTANCIAS

Acetonitrilo, Desarrollador, Sulfato de sodio anhidro, Hexano

BIOLOGICO: Material sospechoso (tejidos: hígado, musculo). Concentrado o forraje o agua destinado para la alimentación de diferentes especies domésticas.

PERSONAL: Bata, mascarilla de vapores o cubre bocas, lentes de seguridad, guantes de plástico

Desarrollo: De acuerdo al número de estudiantes se organizaran por equipos, en donde los integrantes (estudiantes) realizaran la práctica como se describe, bajo la supervisión del profesor de la unidad de aprendizaje.

Se pesa la muestra problema (hígado) y por cada 5 g de ésta, se utilizan 12.5 mL de acetonitrilo, la muestra se licua con aproximadamente la mitad del volumen a alta velocidad por 3 minutos.

Al sedimentarse la muestra, se filtra el sobrenadante a un embudo de separación de 152 mL mediante un embudo de vidrio de tallo corto, el cual tiene fibra de vidrio.

Se vacía el resto de acetonitrilo a la licuadora y se lava por 3 minutos, permitir que



sedimente la muestra y decantar el sobrenadante para filtrado.
Adicionar al filtrado 12.5 mL de sulfato de sodio al 2% por cada 5 g de muestra, agitar vigorosamente y abrir la llave para dejar escapar los vapores
Se realizan tres extracciones de 10 mL de hexano por cada 5 g de muestra, al agregar los primeros 10 mL agitar vigorosamente y depositar el hexano en un matraz Erlen Meyer de 250 mL, repetir el proceso hasta completar las tres extracciones con las recomendaciones anteriores
Adicionar a la muestra sulfato de sodio anhidro (1-2 g) y evaporar a sequedad a una temperatura aproximada de 40 °C, colocar 3 perlas de vidrio.
Resuspender la muestra con el desarrollador específico y aplicar en la placa para cromatografía 10, 20 y 30 µL de la muestra, así como el estándar.
Desarrollar la placa, colocando el desarrollador en el tanque cromatográfico unos minutos antes para su saturación, sacar la placa antes de que el desarrollador llegue a 2 cm antes del borde superior.

Poner a secar la placa, observarla bajando la luz ultravioleta en un cuarto oscuro registrar los factores de retardación de las manchas que aparecieron (RF).

Resultados: La información obtenida será analizada y discutida por el discente con sus compañeros y con el docente.
De manera integral se buscara información: clínica y epidemiológica (selección, organización análisis y redacción), actualizada para la elaboración de un informe escrito completo en cada caso, considerando que la información vertida debe ser actual (artículos), que respalde el resultado obtenido (organoclorados).

Cuestionario:

1. Cuáles son los principales organoclorados de importancia medicina veterinaria
2. Cuál es el mecanismo de acción en la intoxicación por organoclorados
3. Factores de riesgo en la intoxicación por organoclorados
4. Qué sintomatología se presenta en un caso de intoxicación de organoclorados
5. Qué diferencias hay entre compuestos organoclorados y organofosforados

Presentación del material, equipo y muestras solicitadas.

Habilidad y destreza del discente para la realización de la práctica. Además del manejo adecuado del material biológico infeccioso se disponga con base a la NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica



Unidad	Número de la practica
Unidad 2. Principales intoxicaciones en Medicina Veterinaria.	3 Detección de compuestos organofosforados en muestras biológicas.

Objetivo o competencia de la práctica:

Conocer y aplicar los métodos y técnicas de diagnóstico en intoxicación por organofosforados a partir de alimentos destinados para animales.

Detectar las sustancias tóxicas presentes en el material biológico.

Analizar las posibles rutas metabólicas para compuestos extraños basándose en sus estructuras químicas.

Realizar informes de los resultados de los análisis toxicológicos, contemplando todos los aspectos que se exigen para la credibilidad de las conclusiones.

El espacio físico a realizar dicha práctica serán: el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.

Materiales, reactivos y/o equipo:

LABORATORIO: Embudo de vidrio tallo corto, Licuadora, Matraz Erlen Meyer de 250 mL, Micropipeta y puntas amarillas, Perlas de vidrio, Placa para cromatografía, vasos de precipitado, probetas, pipetas graduadas, embudos de separación, Balanza analítica, estufa de desecación, platina caliente, lámpara de luz ultravioleta y equipo de cromatografía. Cuarto oscuro.

REACTIVOS Y SUSTANCIAS

Acetonitrilo, Desarrollador, Sulfato de sodio anhidro, Hexano

BIOLOGICO: Material sospechoso (tejidos: hígado, musculo). Concentrado o forraje o agua destinado para la alimentación de diferentes especies domésticas.

PERSONAL: Bata, mascarilla de vapores o cubre bocas, lentes de seguridad, guantes de plástico

Desarrollo: De acuerdo al número de estudiantes se organizaran por equipos, en donde los integrantes (estudiantes) realizaran la práctica como se describe, bajo la supervisión del profesor de la unidad de aprendizaje.

Se pesa la muestra problema (hígado) y por cada 5 g de ésta, se utilizan 12.5 mL de acetonitrilo, la muestra se licua con aproximadamente la mitad del volumen a alta velocidad por 3 minutos.

Al sedimentarse la muestra, se filtra el sobrenadante a un embudo de separación de



152 mL mediante un embudo de vidrio de tallo corto, el cual tiene fibra de vidrio. Se vacía el resto de acetonitrilo a la licuadora y se lava por 3 minutos, permitir que sedimente la muestra y decantar el sobrenadante para filtrado.

Adicionar al filtrado 12.5 mL de sulfato de sodio al 2% por cada 5 g de muestra, agitar vigorosamente y abrir la llave para dejar escapar los vapores

Se realizan tres extracciones de 10 mL de hexano por cada 5 g de muestra, al agregar los primeros 10 mL agitar vigorosamente y depositar el hexano en un matraz Erlen Meyer de 250 mL, repetir el proceso hasta completar las tres extracciones con las recomendaciones anteriores

Adicionar a la muestra sulfato de sodio anhidro (1-2 g) y evaporar a sequedad a una temperatura aproximada de 40 °C, colocar 3 perlas de vidrio.

Resuspender la muestra con el desarrollador específico y aplicar en la placa para cromatografía 10, 20 y 30 µL de la muestra, así como el estándar.

Desarrollar la placa, colocando el desarrollador en el tanque cromatográfico unos minutos antes para su saturación, sacar la placa antes de que el desarrollador llegue a 2 cm antes del borde superior.

Poner a secar la placa, observarla bajando la luz ultravioleta en un cuarto oscuro registrar los factores de retardación de las manchas que aparecieron (RF).

Resultados: La información obtenida será analizada y discutida por el discente con sus compañeros y con el docente.

De manera integral se buscara información: clínica y epidemiológica (selección, organización análisis y redacción), actualizada para la elaboración de un informe escrito completo en cada caso, considerando que la información vertida debe ser actual (artículos), que respalde el resultado obtenido (organofosforados).

Cuestionario:

1. Cuáles son los principales compuestos organofosforados de importancia medicina veterinaria y a que especies que afecta
2. Cuál es el mecanismo de acción en intoxicación por compuestos organofosforados
3. Qué sintomatología se observa en un caso de intoxicación por organofosforados
4. Cuál es el tratamiento específico para el caso de intoxicación por organofosforados

Presentación del material, equipo y muestras solicitadas.

Habilidad y destreza del discente para la realización de la práctica. Además del manejo adecuado del material biológico infeccioso se disponga con base a la NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.



Unidad	Número de la practica
Unidad 2. Principales intoxicaciones en Medicina Veterinaria.	4 Detección de estricnina en muestras biológicas.

Objetivo o competencia de la práctica:

Aplicar las técnicas de laboratorio cualitativas que permitan la confirmación rápida del diagnóstico sugestivo para la integración de un caso clínico.

Analizar situaciones sobre la base de la integración de diferentes elementos y datos experimentales.

Realizará la necropsia en un animal de laboratorio preferentemente (rata, ratón o cuyo), simulando que haya sido expuesto a una sustancia tóxica. Siempre y cuando se cumpla con las normas NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres; y la NOM-051-ZOO-1995, Trato humanitario en la movilización de animales.

Detectar las sustancias tóxicas presentes en material biológico.

Analizar las posibles rutas metabólicas para compuestos extraños basándose en sus estructuras químicas.

Realizar informes de los resultados de los análisis toxicológicos, contemplando todos los aspectos que se exigen para la credibilidad de las conclusiones.

El espacio físico a realizar dicha práctica serán: el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.

Materiales, reactivos y/o equipo:

MATERIAL: Tubos de vidrio, gradilla, mortero con pistilo, licuadora domestica; ácido sulfúrico, dicromato de potasio, agua destilada y patrón de referencia.

BIOLÓGICO: Preferentemente animales de laboratorio (rata, ratón o cuyo) o perro.

PERSONAL: Bata u overol, mascarilla de vapores o cubre bocas, lentes de seguridad, guantes de plástico

Desarrollo: De acuerdo al número de estudiantes se organizaran por equipos, en donde los integrantes (estudiantes) realizaran la práctica como se describe, bajo la supervisión del profesor de la unidad de aprendizaje.

MÉTODO: Se pesan aproximadamente 3-5 g de muestra sospechosa (tejidos, contenido estomacal, alimento concentrado, forraje), se depositan en tubos de vidrio



con capacidad de 30 mL, con la identificación siguiente: blanco positivo, muestra sospechosa y blanco negativo; al blanco positivo se le agrega el material sospechoso más el patrón de referencia en concentración conocida; el tubo de muestra sospechosa únicamente el material a probar y el blanco negativo sin muestra; a cada tubo se le agregan 10 mL de ácido sulfúrico concentrado, se agrega 1 g de dicromato de potasio y se evalúa el cambio de color.

Resultados: La información obtenida será analizada y discutida por el discente con sus compañeros y con el docente.
De manera integral se buscará información: clínica y epidemiológica (selección, organización análisis y redacción), actualizada para la elaboración de un informe escrito completo en cada caso, considerando que la información vertida debe ser actual (artículos), que respalde el resultado obtenido (rodenticida: estriquina).

Cuestionario:

- 1.Cuál es la finalidad de la adición del ácido en el proceso de laboratorio en la técnica descrita
- 2.Cuál es la función del dicromato de potasio en el proceso de laboratorio en la técnica descrita anteriormente
- 3.Cuál es el mecanismo de acción de la estriquina
4. Que signos clínicos se observan en un proceso de intoxicación por estriquina
- 5.Cuál es el tratamiento en intoxicación por estriquina

La evaluación correspondiente se realizara de acuerdo a:

Presentación del material, equipo y muestras solicitadas.

Habilidad y destreza del discente para la realización de la práctica. Para lo cual es importante considerar el Manejo adecuado del material biológico infeccioso se disponga con base a la NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.



Unidad	Número de la practica
Unidad 2. Principales intoxicaciones en Medicina Veterinaria.	5 Detección de warfarina en muestras biológicas.

Objetivo o competencia de la práctica:

Evaluar el efecto dosis respuesta a rodenticidas bajo un cuadro de exposición aguda. Realizará la necropsia en los animales que hayan sido expuestos a una sustancia tóxica.

Realizará la necropsia en un animal de laboratorio preferentemente (rata, ratón o cuyo), simulando que haya sido expuesto a una sustancia tóxica. Siempre y cuando se cumpla con las normas NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres; y la NOM-051-ZOO-1995, Trato humanitario en la movilización de animales.

Detectar las sustancias tóxicas presentes en el material biológico.

Analizar las posibles rutas metabólicas para compuestos extraños basándose en sus estructuras químicas.

Realizar informes de los resultados de los análisis toxicológicos, contemplando todos los aspectos que se exigen para la credibilidad de las conclusiones.

El espacio físico a realizar dicha práctica serán: el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.

Materiales, reactivos y/o equipo:

LABORATORIO: Hoja clínica, estetoscopio, termómetro, instrumental de disección y necropsia, frascos de vidrio, tubos con y sin anticoagulante, estándares de warfarina.

BIOLÓGICO: Preferentemente animales de laboratorio (rata, ratón o cuyo) o perro.

PERSONAL: Bata, mascarilla de vapores o cubre bocas, lentes de seguridad, guantes de plástico, botas y mandil.

Desarrollo: De acuerdo al número de estudiantes se organizaran por equipos, en donde los integrantes (estudiantes) realizaran la práctica como se describe, bajo la supervisión del profesor de la unidad de aprendizaje.



METODOLOGÍA: Se requiere cumplir con las normas NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres; la NOM-051-ZOO-1995, Trato humanitario en la movilización de animales; y NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. En caso de reunir los requisitos para su realización: el perro será expuesto a la dosis máxima tóxica para evaluar a través del estudio clínico el efecto dosis-respuesta a los rodenticidas y a través del estudio postmortem, evaluar los cambios macroscópicos en los diferentes aparatos y sistemas.

Resultados: La información obtenida será analizada y discutida por el discente con sus compañeros y con el docente.
De manera integral se buscará información: clínica y epidemiológica (selección, organización análisis y redacción), actualizada para la elaboración de un informe escrito completo en cada caso, considerando que la información vertida debe ser actual (artículos), que respalde el resultado obtenido (rodenticida: warfarina).

Cuestionario:

1. Cuáles son los principales rodenticidas de importancia medicina veterinaria
2. Qué sintomatología esperarías en un caso de intoxicación por warfarina en perro, cuyo, rata y ratón.
- 3.Cuál es el mecanismo de acción de la warfarina
4. Que muestra resulta ideal para detectar la afectación de un organismo afectado por intoxicación por warfarina y en qué momento se colectaría
5. Que conservador se utilizaría para la muestra a enviar a laboratorio

Presentación del material, equipo y muestras solicitadas.

Habilidad y destreza del discente para la realización de la práctica. Manejo adecuado del material biológico infeccioso se disponga con base a la NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica



Unidad	Número de la practica
Unidad 2. Principales intoxicaciones en Medicina Veterinaria.	6 Detección de nitratos en muestras biológicas.

Objetivo o competencia de la práctica:

OBJETIVO GENERAL. El discente integrará una historia clínica, los hallazgos clínico patológicos para la elaboración de un diagnóstico y la decisión en la selección de muestras, que permitan la integración del diagnóstico toxicológico.

OBJETIVOS PARTICULARES. Detectar la sustancia tóxica presente en el material biológico. Elaborar hipótesis sobre rutas metabólicas para compuestos extraños basándose en sus estructuras químicas. Realizar informes de los resultados de los análisis toxicológicos, contemplando todos los aspectos que se exigen para la credibilidad de las conclusiones.

El espacio físico a realizar dicha práctica serán: el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.

Materiales, reactivos y/o equipo:

Matraz volumétrico de un litro, Pipeta volumétrica, Matraz Erlen Meyer de 250 mL, Papel filtro de poro grueso o fibra de vidrio, Vaso de precipitado, Tubos de 25 mL, Vórtex, Dilutor.

REACTIVOS Y SUSTANCIAS.

Sulfato cúprico pentahidratado, Agua destilada, Hidróxido de sodio grado reactivo, Sulfato de hidrazina, Ácido fosfórico al 85 %, Sulfanilamida grado reactivo, N- (1-naftil) etilendiamine dihydroclorhidre, Nitrato de potasio

PERSONAL: bata u overol, cubre bocas, lentes de seguridad, guantes de látex, botas y mandil.

Desarrollo: De acuerdo al número de estudiantes se organizaran por equipos, en donde



los integrantes (estudiantes) realizarán la práctica como se describe, bajo la supervisión del profesor de la unidad de aprendizaje.

EXTRACCIÓN (Ensilados, alimentos y pastos)

1. Secar 100 g de la muestra, hasta peso constante a 100 °C toda la noche.
2. Moler hasta que la muestra esté finamente fragmentada y mezclar.
3. Pesar 10 g de la muestra dentro de un matraz Erlen Meyer de 250 mL y agregar 100 mL de agua destilada, agitar vigorosamente por 35 minutos.
4. Filtrar a través de un papel filtro de poro grueso o con fibra de vidrio y recibir el filtrado en un vaso de precipitado.

EXTRACCIÓN Y DILUCIÓN. Analizar directamente o diluir con los diferentes estándares y analizar.

1. Utilizar tubos de 25 mL e identificarlos como: blanco, muestra 10, 20, 40, 60 y 100 ppm respectivamente.
2. Al tubo blanco agregarle 200 mL de agua destilada; al tubo muestra agregar 200 mL de la muestra problema y a los siguientes tubos 200 mL del respectivo estándar.
3. Agregar 3 mL de reactivo de sulfato de cobre a cada tubo.
4. Adicionar 2 mL de reactivo de hidracina y 3 mL del reactivo de dióxido de sodio a cada tubo.
5. Mezclar en el vórtex.
6. Adicionar 3 mL de reactivo de coupling a cada tubo
7. Mezclar en el vórtex.
8. Reposar por 10 minutos para el desarrollo óptimo del color y leer a una absorbancia de 520 nm de longitud de onda.

Construir una curva estándar (concentración contra absorbancia) y calcular en ppm sobre el peso original en base seca.

Nitratos en la muestra x factor de solución

ppm = peso de la muestra en base seca

Soluciones altamente coloreadas.

Estas pueden ser leídas directamente: tomar una alícuota de 0.1 mL y diluir a 12 mL con dilutor por 120 minutos.

Los dobles colores que tome la muestra no es un efecto de los niveles de nitratos en la solución.

Si la muestra es especialmente espesa como la melaza, efectuar una dilución inicial de 1-100 en el proceso. Los niveles de nitratos pueden ser expresados significativamente en ppm, también con esta dilución se puede efectuar la lectura en ppm sin ninguna interferencia del color en la solución original.

Resultados: La información obtenida será analizada y discutida por el discente con sus compañeros y con el docente.

De manera integral se buscará información: clínica y epidemiológica (selección, organización análisis y redacción), actualizada para la elaboración de un informe escrito completo en cada caso, considerando que la información vertida debe ser actual (artículos), que respalde el resultado obtenido (nitratos).



Cuestionario:

1. Cuáles serían las muestras representativas para estudio toxicológico, fundamental
2. Como sería tu ruta de diagnóstico para obtenerlo de manera integral resultados y en cuanto tiempo crees tener dicho diagnóstico
- 3.Cuál es el proceso fisiopatológico de intoxicación por nitratos
- 4.Cuál es el tratamiento recomendable en intoxicación por nitratos
5. Con base a la cinética de intoxicación por nitratos, en que tiempo se manifiestan los primeros signos clínicos en un organismo intoxicado

La evaluación correspondiente se realizara de acuerdo a:

Presentación del material, equipo y muestras solicitadas.

Habilidad y destreza del discente para la realización de la práctica. Para lo cual es importante considerar el Manejo adecuado del material biológico infeccioso se disponga con base a la NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.

DISPOSICION DE RESIDUOS. Los residuos generados se eliminan considerando el tipo de material o reactivo, y de acuerdo a los anexos II, III, IV, V y VI (Programa de bioseguridad del laboratorio).

Unidad	Número de la practica
Unidad 2. Principales intoxicaciones en Medicina Veterinaria.	7 Detección de urea en muestras biológicas.

Objetivo o competencia de la práctica:

Aplicar las técnicas de laboratorio cualitativas que permitan la confirmación rápida del diagnóstico sugestivo para la integración de un caso clínico.

Analizar situaciones sobre la base de la integración de diferentes elementos y datos experimentales.

Detectar las sustancias tóxicas presentes en material biológico (contenido ruminal obtenido a partir de muestras de rastro- colectada, conservada y enviada en condiciones apropiadas para análisis).

Analizar las posibles rutas metabólicas para compuestos extraños basándose en sus estructuras químicas.

Realizar informes de los resultados de los análisis toxicológicos, contemplando todos los aspectos que se exigen para la credibilidad de las conclusiones.

El espacio físico a realizar dicha práctica serán: el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.

Materiales, reactivos y/o equipo:

REACTIVOS Y SUSTANCIAS

Solución de ureasa, Solución de azul de bromotimol, Solución antiespumante, Solución de cloruro de calcio

Solución antiespumantes. Disolver 50 g de esterato de diglicerol en 377 mL de benceno, 75 mL de alcohol y 250 mL de F-talato de dibutilo calentado si es necesario. La parafina



picada finamente también es buen antiespumante o emulsión antiespumante b.

Solución de ureasa. Preparar una solución reciente cada vez. Disolver ureasa en agua en concentración tal que 10 mL de solución neutralizada conviertan en nitrógeno por lo menos a 0.1 g de urea pura.

Solución de cloruro de calcio. Disolver 25 g de CaCl_2 en 100 mL de agua.

Estandarización de la ureasa.

Determinar la alcalinidad de la ureasa disolviendo 0.1 g de ureasa en 50 mL de agua y titular con HCl 0.1 N usando como indicador rojo de metilo. Adicionar la misma cantidad de ácido cada 0.1 g de ureasa que se prepare.

Para determinar la actividad enzimática preparar aproximadamente 50 mL de la solución neutralizada de ureasa al 1%, adicionar diferentes cantidades de solución a las muestras de 0.1 g de urea pura siguiendo el procedimiento de destilación descrito para la muestra. Calcular la actividad de solución de ureasa necesaria para convertir a nitrógeno 0.1 de urea adicionada.

MATERIAL

Mortero con pistilo, Tiras de papel filtro (Whatman No 5), Frasco ámbar con tapón de rosca.

Muestra de contenido ruminal conservada en cloruro de mercurio.

PERSONAL: Bata u overol, mascarilla de vapores o cubre bocas, lentes de seguridad, guantes de plástico

Desarrollo: De acuerdo al número de estudiantes se organizaran por equipos, en donde los integrantes (estudiantes) realizaran la práctica como se describe, bajo la supervisión del profesor de la unidad de aprendizaje.

1. Agregar 2 g de muestra en matraz de Kjeldalh de 250 mL
2. Adicionar 10 mL de solución ureasa, tapar y dejar reposar durante una hora o 20' a 40 °C, si se calentó, enfriar a temperatura ambiente. Usar más soluciones de ureasa si el alimento contiene más del 5% de urea (equivalente al 12% de proteína) lavar el tapón y el cuello del matraz con unos mililitros de agua.
3. Adicionar 2 g o más de MgO (tipo pesado), 1 mL de solución de CaCl_2 y 1 mL de solución de antiespumante y conectar el matraz a un bulbo condensador de Kjeldalh.
4. Destilar 100 mL recogiendo en 25 mL de ácido clorhídrico 0.1 N y titular con NaOH 0.1 N usando rojo de metilo como indicador, o recogiendo el ácido bórico al 4 % y titulando con HCl 0.1N usando el indicador de verde de bromocresol - rojo de metilo descrito en el método de Kjeldalh

La urea contenida en la muestra se calcula teniendo en cuenta los mililitros empleados y la actividad de la solución de ureasa.

Resultados: La información obtenida será analizada y discutida por el discente con sus compañeros y con el docente.

De manera integral se buscara información: clínica y epidemiológica (selección, organización análisis y redacción), actualizada para la elaboración de un informe escrito completo en cada caso, considerando que la información vertida debe ser actual (artículos), que respalde el resultado obtenido (urea).



Cuestionario:

1. Cuál es el fundamento de la prueba descrita
2. Cuál es el mecanismo de intoxicación por urea
3. Que signos clínicos son observables en un proceso de intoxicación por urea
4. Que muestra sería recomendable para evaluación en el laboratorio, fundaméntalo
5. Que sustancia requiere la muestra como conservador, y en qué cantidad

La evaluación correspondiente se realizara de acuerdo a:

Presentación del material, equipo y muestras solicitadas.

Habilidad y destreza del discente para la realización de la práctica. Para lo cual es importante considerar el Manejo adecuado del material biológico se disponga con base a la NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.

Unidad	Número de la practica
Unidad 2. Principales intoxicaciones en Medicina Veterinaria.	8 Evaluación del efecto hemolítico de las saponinas en eritrocitos.

Objetivo o competencia de la práctica:

Aplicar las técnicas de diagnóstico semi-cualitativas que permitan confirmar el diagnóstico etiológico.

Analizar situaciones sobre la base de la integración de diferentes elementos y datos experimentales.

Detectar las sustancias tóxicas presentes en el material biológico.

Analizar las posibles rutas metabólicas de los compuestos extraños basándose en sus estructuras químicas.

Realizar informes de los resultados de los análisis toxicológicos, contemplando todos los aspectos que se exigen para la credibilidad de las conclusiones.

El espacio físico a realizar dicha práctica serán: el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.

Materiales, reactivos y/o equipo:

MATERIAL: Probetas, Tubos de ensayo, mortero con pistilo o licuadora doméstica, pipetas graduadas, matraz volumétrico de 25 mL, agua destilada, PBS, eritrocitos de



ratón, SDS,
EQUIPO: Espectrofotómetro UV, Balanza analítica.
PERSONAL: Bata, guantes de plástico.

Desarrollo: De acuerdo al número de estudiantes se organizaran por equipos, en donde los integrantes (estudiantes) realizaran la práctica como se describe, bajo la supervisión del profesor de la unidad de aprendizaje.

Determinación de la Concentración hemolítica 50 (CH₅₀).

Preparación de las muestras

Modelo Biológico

Se empleó en este ensayo eritrocitos de humano acorde con la técnica reportada por Kondo *et al* 1970 y Pape *et al* 1987. Se obtiene un volumen de 250 mL de sangre de ratón se diluye con PBS 1:1

Manipulación

Para la manipulación de las muestras se procedió con todas las medidas de seguridad necesarias, para cuando se experimenta con sangre y con sustancias tóxicas

Preparamos diluciones seriadas de los compuestos a evaluar a las concentraciones de estudio. Cada concentración se evaluó por triplicado. Las muestras a evaluar se prepararon a partir de la mezcla de PBS, eritrocitos y volúmenes correspondientes a 1mg/mL de la concentración del compuesto en estudio.

Se preparan las diluciones para cada uno de los compuestos pues están formulados a diferentes concentraciones (Cuadro 1).

Compuesto	PBS (µL)	Eritrocitos (µL)
160	1790	50
200	1750	50
300	1650	50
320	1630	50
480	1470	50
540	1410	50
600	1350	50
160	1790	50

Las muestras fueron incubadas a temperatura ambiente durante 60 minutos, el cual se termina con una corta y rápida centrifugación (10 minutos a 2500 r.p.m). El sobrenadante resultante fue monitoreado se le realizo la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 540 nm contra un blanco (Control de Fragilidad) de eritrocitos (50µl) en 1950µl de PBS (monitorización de la hemólisis espontánea).

Variables a medir:

A_i : absorbancia correspondiente a cada concentración (540nm).

A_{100} : absorbancia correspondiente a la hemólisis total (540nm).

A : Absorbancia a 540nm. Lectura de Hb (criterio de hemólisis)

A : Absorbancia a 575nm. Lectura de Hb (criterio de hemólisis)

% Hemólisis

CH₅₀ = Concentración que causa la hemólisis del 50% de los eritrocitos.

ID = Índice de Desnaturalización



El porcentaje de hemólisis se determina por comparación de la absorbancia del sobrenadante con las muestras controles totalmente hemolisadas con agua destilada a 540nm.

$$\% \text{ Hemólisis} = \frac{A_i \times 100}{A_{100}}$$

Donde:

A_i : absorbancia correspondiente a cada concentración.

A_{100} : absorbancia correspondiente a la hemólisis total.

La concentración que produce un 50% de los eritrocitos hemolisados (CH_{50}), se determina por el cálculo del por ciento y una regresión lineal.

Determinación de la Desnaturalización de la Hemoglobina

a) Preparación de las muestras

Los productos de prueba se prepararon a una concentración del 1mg/mL. Se tomó una alícuota de 200 μ L de muestra, 50 μ L de suspensión eritrocítica ajustada a la concentración de oxihemoglobina, ya descrita y 1750 μ L de PBS (pH 7.4). En este caso el blanco se hizo con 1800 μ L de PBS y 200 μ L de la sustancia a ensayar. Se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se agitó vigorosamente y se centrifugó a 3500 r.p.m, durante 5 minutos. El sobrenadante se analizó a 540 y 575 nm en el espectrofotómetro. Para obtener el valor de R2 se preparó una solución de SDS en PBS (10g/L). Se tomó una alícuota de 200 μ L y se añadieron 50 μ L de la suspensión eritrocítica y 1750 μ L de PBS (pH 7.4). Cada muestra se evaluó por triplicado

b) Determinación del Índice de Desnaturalización (ID)

Para obtener este índice es necesario el cálculo del cociente de la Absorbancia a 575 nm entre la Absorbancia a 540 nm lo que nos permite hallar el factor R2 (perteneciente al estándar interno SDS). El factor Ri es la relación de absorbancias obtenidas del producto a evaluar, y se determina cociente de Absorbancia a 575nm entre Absorbancia a 540nm. R1 es la relación que determinamos para oxihemoglobina humana y que tiene un valor de $1,05 \pm 0,001$. La diferencia (R1-R2) se define como el 100% de desnaturalización de oxihemoglobina por efecto del SDS.

$$ID (\%) = \frac{100 (R1-Ri)}{(R1-R2)}$$

Interpretación de los resultados

La inclinación positiva de la curva Absorbancia vs. Concentración, muestra el aumento en el daño celular, la liberación inmediata de oxihemoglobina se refleja en el aumento de absorbancia a mayor concentración del estándar. A partir de esta curva se determina la Concentración Hemolítica 50 (CH_{50}), responsable de la hemólisis del 50% de los eritrocitos. Para la clasificación de los compuestos en irritante o no se emplea una escala. En el cuadro 2 se muestra el criterio para la clasificación de la irritación ocular establecidos en el protocolo original.

Cuadro 2. Escala numérica para la clasificación de la irritación ocular propuesto.

Cociente L/D in vitro	Estimación de la Irritación Ocular in vivo
L/D > 100	No irritante
L/D > 10	Ligeramente Irritante



L/D>1	Moderadamente irritante
L/D>0.1	Irritante
L/D<01	Muy Irritante

Resultados: La información obtenida será analizada y discutida por el discente con sus compañeros y con el docente.
De manera integral se buscara información: clínica y epidemiológica (selección, organización análisis y redacción), actualizada para la elaboración de un informe escrito completo en cada caso, considerando que la información vertida debe ser actual (artículos), que respalde el resultado obtenido (saponinas).

Cuestionario:
1. Cuál es el fundamento de la técnica descrita.
2. Cuál es el mecanismo de acción de las saponinas
3. Que muestras son las ideales para detección de saponinas
4. Que signos clínicos son observables en intoxicación por saponinas
5. Cuál es el tratamiento de elección en intoxicación por saponinas
6. Que especie (s) animal (es) se ve (n) involucrada (s) en el proceso de intoxicación y bajo que contexto

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)

Unidad	Número de la practica
Unidad 2. Principales intoxicaciones en Medicina Veterinaria.	9 Detección de aflatoxinas en muestra biológicas.

Objetivo o competencia de la práctica:
Conocer y aplicar los métodos y técnicas de diagnóstico de las micotoxicosis a partir de alimentos destinados para animales.
Realizará la necropsia en los animales que hayan sido expuestos a una sustancia tóxica.
Detectar las sustancias tóxicas presentes en el material biológico.
Analizar las posibles rutas metabólicas para compuestos extraños basándose en sus estructuras químicas.
Realizar informes de los resultados de los análisis toxicológicos, contemplando todos los aspectos que se exigen para la credibilidad de las conclusiones.

El espacio físico a realizar dicha práctica serán: el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.
Materiales, reactivos y/o equipo:



LABORATORIO: Matraz Erlen meyer, vasos de precipitado, probetas, pipetas graduadas, embudos de separación, perlas de vidrio, placas de vidrio. Balanza analítica, estufa de desecación, platina caliente, lámpara de luz ultravioleta y equipo de cromatografía. Ácido clorhídrico, éter de petróleo, éter, cloroformo, acetonitrilo, sulfato de sodio anhidro, cloruro férrico y estándares de aflatoxinas.

BIOLOGICO: Semillas (maíz, avena, sorgo), concentrados alimenticios o forraje destinado para la alimentación de diferentes especies domésticas.

PERSONAL: Bata, mascarilla de vapores o cubre bocas, lentes de seguridad, guantes de plástico, botas y mandil.

Desarrollo: De acuerdo al número de estudiantes se organizaran por equipos, en donde los integrantes (estudiantes) realizaran la práctica como se describe, bajo la supervisión del profesor de la unidad de aprendizaje.

METODOLOGÍA: Extracción de micotoxinas a partir del alimento a través de la extracción con solventes, evaporación a sequedad, aplicación en la placa cromatografica y su visualización bajo luz ultravioleta. Estableciendo el factor de retardación en función a los estándares de referencia.

Resultados:

La información obtenida será analizada y discutida por el discente con sus compañeros y con el docente.

De manera integral se buscara información: clínica y epidemiológica (selección, organización análisis y redacción), actualizada para la elaboración de un informe escrito completo en cada caso, considerando que la información vertida debe ser actual (artículos), que respalde el resultado obtenido (aflatoxinas).

Cuestionario:

1. Cuáles son los principales micotoxinas de importancia en medicina veterinaria y las especies que afecta
2. Las aflatoxinas son capaces de afectar a los humanos y como sería su mecanismo de acción en este
3. Qué sintomatología esperarías en un caso de intoxicación de aflatoxinas en pollos
4. Cuál es el tratamiento recomendable en intoxicación por aflatoxinas
5. Cuáles son las recomendaciones- prevención control- para evitar contaminación de los alimentos por aflatoxinas
6. Los diagnósticos diferenciales por intoxicación por aflatoxinas, son:

Presentación del material, equipo y muestras solicitadas.

Habilidad y destreza del discente para la realización de la práctica. Además del manejo adecuado del material biológico infeccioso se disponga con base a la NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.



Unidad	Número de la practica
Unidad 2. Principales intoxicaciones en Medicina Veterinaria.	10 Detección de clenbuterol en muestras clínicas.

Objetivo o competencia de la práctica:

Detectar las sustancias tóxicas presentes en el material biológico.

Analizar las posibles rutas metabólicas para compuestos extraños basándose en sus estructuras químicas.

Realizar informes de los resultados de los análisis toxicológicos, contemplando todos los aspectos que se exigen para la credibilidad de las conclusiones.

El espacio físico a realizar dicha práctica serán: el laboratorio de prácticas – FMVZ, o en el laboratorio de Toxicología del CIESA.

Materiales, reactivos y/o equipo:

LABORATORIO: KIT CLENBUTEROL FAST®. Lector de ELISA - equipo de cómputo (Software*), Micropipetas de 10, 100, 1000 ml, Potenciómetro, agua destilada, puntas



azules y amarillas, cronometro, termómetro ambiental.
BIOLOGICO: suero sanguíneo u orina.
PERSONAL: Bata, guantes de plástico.

Desarrollo: De acuerdo al número de estudiantes se organizaran por equipos, en donde los integrantes (estudiantes) realizaran la práctica como se describe, bajo la supervisión del profesor de la unidad de aprendizaje.
Insertar suficientes pozos en la placa integrada en el kit para todos los estándares y muestras que se deberán correr por duplicado. Anotar la ubicación de estándares y muestras.
Agregar 100 µl de solución de anticuerpos diluidos a cada pozo e incubar por 15 minutos a temperatura ambiente.
Vaciar el líquido de los pozos invirtiendo la microplaca boca abajo y sacudiéndola vigorosamente contra un papel secante, llenar todos los pozos con 250 µl de agua destilada y vaciarla nuevamente. Repetir dos veces más.
Agregar 20 µl del estándar de la muestra preparada por duplicado.
Agregar 100 µl de la enzima-conjugado diluida, en el fondo de cada pozo e incubar por 30 minutos a temperatura ambiente.
Agregar a cada pozo 50 µl del sustrato y 50 µl cromógeno. Mezclar e incubar en la oscuridad por 15 minutos a temperatura ambiente.
Agregar 100 µl de la solución de paro a cada pozo. Mezclar y medir la absorbancia a 450 nm contra un blanco de aire. Leer dentro de un lapso de 60 minutos.

Resultados:

La información obtenida será analizada y discutida por el discente con sus compañeros y con el docente.

De manera integral se buscara información: clínica y epidemiológica (selección, organización análisis y redacción), actualizada para la elaboración de un informe escrito completo en cada caso, considerando que la información vertida debe ser actual (artículos), que respalde el resultado obtenido (clembuterol).

Cuestionario:

1. Cuál es el fundamento de la prueba para la detección de clembuterol
2. Qué puntos son críticos para la obtención de resultados
3. Que tratamiento previo requieren las muestras a probar en la prueba de ELISA
4. Que norma respalda los resultados positivos obtenidos
5. Que acciones deben tomarse en campo en caso de muestras positivas
6. Que recomendaciones de manera integral realizarías en caso de muestras positivas

Presentación del material, equipo y muestras solicitadas.

Habilidad y destreza del discente para la realización de la práctica. Manejo adecuado del material biológico infeccioso se disponga con base a la NOM-087-ECOL-1995, Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.



Bibliografía:

- Dreisbach, R. H. y E. E. Fraga, (1988) Manual de Toxicología Clínica; Prevención, Diagnóstico y Tratamiento. México, El Manual Moderno (RA1211 D7 1988)
- Garner, R. J. y D. S. Papworth, (1970) Toxicología Veterinaria. 3a edición. España, Editorial Acribia. (SF757 G518 1970)
- Gupta, R. C., (2012) Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles. 2ª Edition. USA, Elsevier Academic Press. (SF752.5.V59 2012)
- Jurado, C. R., (1989) Toxicología Veterinaria. 2ª edición. España, Editorial Salvat. (SF757.5 J87 1989)
- Lorgue, G.; Lechet, J. y A. Riviere, (1997) Toxicología Clínica Veterinaria. España, Editorial Acribia. (SF757.5 L67)
- Plunkett, E. R., (1978) Manual de Toxicología Industrial. España, URMO. (RA1228 P62)
- Plumlee, K. H., (2003) Clinical Veterinary Toxicology. USA, MOSBY-ELSEVIER. (SF757.5 .C65 2003)



- Radeleff, R. D., (1967) Toxicología Veterinaria. España, Editorial Academia. (SF757 R318)
- Arias, V.J.; Dierkmeler, C. G. y C. N. Cabrera, (1990) Plaguicidas Organoclorados. México, CPEHS-OMS-OPS. (SB952 C44 P53)
- Burrows, E.G. and J. R. Tyrl, (2006) Handbook of toxic plants of North America. USA, Blackwell Publishing. (SF757.5.B873.2006)
- Carlyle, J. T. y D. H. Ronald, (1983) Patología Veterinaria. 5ª edición. Argentina, Hemisferio Sur S. A. (SB769 J65)
- González, S. A., (1989) Plantas Tóxicas para el ganado. México, Editorial Limusa. (QK100.S87.G65)
- Jones, T. L. and R. D. Hunt, (1983) Veterinary pathology. 5a edition. USA, LEA FEBIGER. (SF769 J64 1983)
- Jubb, K. V. F., (2007) Pathology of domestic animals. 5a edition. Elsevier Saunders. Edimburgo, UK (SF769 .P35 2007)
- Morgan, P. D., (1989) Diagnóstico y tratamiento de los envenenamientos por plaguicidas. 4ª edición. México, CPEHS-OMS-OPS. (SB952.5 D53 1989)
- Smith, E.J. y J. Halmick, (1993) Guías para el tratamiento y la disposición de pequeñas cantidades de desechos de plaguicidas. México, CPEHS-OMS-OPS. (SB952.5 G85)
- Gleixner, A. y Meyer. H.H.D.: (1998) Methods to detect anabolics in hair: Use for food hygiene and doping control. International Laboratory: 23. 20.
- Lau, B.P.Y.:(1997) Confirmation Analysis of Clenbuterol in Beef Liver and Minced Beef by a Combination of Immunoaffinity Chromatography and Liquid Chromatography / Electrospray Mass Spectrometry or Liquid Chromatography / Electrospray tandem Mass Spectrometry. *J. of Mass Spectrometry*, Vol. 32: 655-661.
- Boyd, D. *et al.*,: (1996) Methods for the Determination of β -Agonists in Biological Matrices. A Review. *Analyst*, Vol. 121.

ANEXOS. TIPO Y COLOR DE LOS RECIPIENTES DE ACUERDO AL RESIDUO Y SU ESTADO FÍSICO.

TIPO DE RESIDUO	ESTADO FÍSICO	ENVASADO	COLOR
Sangre Tejidos orgánicos Alimentos	Sólido	Bolsa de plástico	Rojo
Residuos no anatómicos derivados de la atención a pacientes en clínicas y	Líquido	Recipiente hermético	Rojo



laboratorios			
Residuos no anatómicos derivados de la atención a pacientes en clínicas y laboratorios	Sólidos	Bolsa de plástico	Rojo
Patológicos: tejidos y órganos de necropsias, cadáveres animales, muestras biológicas	Líquidos	Recipientes herméticos	Amarillo
Patológicos: tejidos y órganos de necropsias, cadáveres animales, muestras biológicas	Sólidos	Bolsa de plástico	Amarillo
Objetos punzó cortantes usados y sin usar	Sólidos	Recipientes rígidos	Rojo

CLASIFICACIÓN DE LOS CONTENEDORES PARA RESIDUOS PELIGROSOS QUÍMICOS

COLOR	CÓDIGO	TIPO DE SUSTANCIA	EJEMPLOS
Azul	A	Disolventes orgánicos y soluciones de sustancias orgánicas que no contengan halógenos	Acetona
Amarillo	B	Disolventes orgánicos y soluciones de sustancias orgánicas que contengan halógenos	Cloroformo
Naranja	C	Residuos sólidos orgánicos	Ac. Acetil salicílico
Sepia	D	Soluciones salinas (inorgánicas)	Sulfato de cobre
Rosa	E	Residuos inorgánicos tóxicos así como las sales y sus soluciones de metales pesados	Sales de plomo, talio y selenio
Verde	F	Compuestos combustibles tóxicos	Benceno
Café	G	Mercurio y sales de mercurio	Sulfato de mercurio
Gris	H	Sales metálicas regenerables	Cloruro de plata, oro
Verde pista che	I	Sólidos inorgánicos	Carbonato de bario
Azul cielo	K	Residuos de vidrio, plástico, metal, columnas y cartuchos para	Recipientes rotos,



		HPLC, gel de sílice para capa fina y columna, papel filtro, papel indicador	papel
--	--	---	-------

CÓDIGO DE COLORES PARA ALMACENAJE DE REACTIVOS QUÍMICOS (J.T. BAKER).

COLOR	ESPECIFICACIÓN	ALMACENAMIENTO
Azul	Riesgo de salud	Área libre de tóxicos
Rojo	Riesgo de inflamación	Área de líquidos inflamables
Amarillo	Riesgo de reactividad	Área libre de combustibles o inflamables
Blanco	Riesgo al contacto	Área a prueba de corrosivos
Naranja	Sustancia con una clasificación no mayor en ninguna categoría de riesgo	Área general de químicos

BITÁCORA PARA EL CONTROL DE RESIDUOS PELIGROSOS GENERADOS DENTRO DEL LABORATORIO (Dirección de Protección Civil Universitaria –UAEM).

Fecha	Hora	Actividad	Residuos	Cantidad	Riesgo	Desactivación	Almacenamiento	Disposición Final