

193
29

EL FACTOR DE TRANSFERENCIA
EN LA ENFERMEDAD DE AUJESKY

David Arturo Rodríguez Lazcano
Asesores:
M.V.Z. Fernando Olgún Romero
M.V.Z. Angel Retana Reyes
México, D.F., 1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	8
RESULTADOS	13
DISCUSION	16
CONCLUSIONES	23
CUADROS	24
LITERATURA CITADA	29

RESUMEN

RODRIGUEZ LAZCANO, DAVID ARTURO. El Factor de Transferencia en la enfermedad de Aujeszky (bajo la dirección de: Fernando Olguín - Romero y Angel Retana Reyes).

Se describe la patogenia de la enfermedad, los tipos conocidos de inmunidad que provoca en los animales y las formas actuales de control y diagnóstico. Se describen asimismo las características conocidas de una sustancia que se obtiene a partir de lizados de leucocitos — circulantes de animales marcadamente inmunes, y que se conoce como - Factor de Transferencia. Este Factor se ha utilizado en forma terapéutica en enfermedades crónicas de los humanos, en las cuales, la - inmunidad celular es la que confiere resistencia. El objetivo del - trabajo fue demostrar que en modelos animales, (cerdo y ratón) se — puede comprobar la producción del Factor de Transferencia contra la enfermedad de Aujeszky y que confiere inmunidad específica contra dicha enfermedad. Los resultados obtenidos confirmaron la hipótesis. Por otro lado, se discute sobre los posibles mecanismos de acción — del Factor de Transferencia, y por último, se recomienda que se hagan otras investigaciones adicionales al respecto.

INTRODUCCION

La enfermedad de Aujeszky o Pseudorrabia es una enfermedad viral, infecciosa, aguda, producida por un virus Herpes tipo I. Afecta a varias especies de animales domésticos y silvestres, como bovinos, porcinos, canideos, felinos, ovinos, roedores y aves entre otros (3, 11, 12).

Aujeszky, trabajando en Hungría (1902) fue el primero en describir la enfermedad, observó su desarrollo natural en el ganado vacuno, gatos y perros y transmitió experimentalmente el agente a conejos (3).

Schmeidhoffer en 1910 demostró que el agente etiológico era un virus y advirtió su presencia en varias partes del mundo, según Merchant (11).

En 1931 Shope probó que la "Comezón Loca" que sufrían los bovinos en Iowa, U.S.A., era en realidad la enfermedad de Aujeszky (3, 10).

En México fue inicialmente observada por Bachtöld, en 1945 en bovinos de Aguascalientes, Ags. y León, Gto., y posteriormente por Martell en el año de 1970 en Arcelia, Gro (10).

Posteriormente se detectaron brotes de lechones, principalmente en los estados de Guanajuato y Michoacán, en 30 granjas porcícolas. La revista Diagnostas reportó en el año de 1975 un

total de 4,242 lechones muertos, haciendo resaltar la importancia de la enfermedad por las pérdidas económicas que causa éste renglón de la ganadería nacional (1, 10).

El agente etiológico es un Herpesvirus termoestable que resiste variaciones de pH en mayor grado que otros Herpes, resiste el fenol al 3%, sobrevive durante semanas en carnes y fomites infectados, se conserva en glicerina al 50% a 0° C por años. El peso molecular del D N A es de 70×10^6 y mide de 150 a 180 nm, crece en tejidos renales y testiculares del conejo. Se destruye por calentamiento a 60° C durante 30 a 50 minutos, y de inmediato a 100° C, por el ácido fénico en dos horas. Muere en la materia putrefacta en 11 días y en hidróxido de sodio al 1% instantáneamente (11, 12).

En el cerdo es una entidad enzoótica, contagiosa, leve e incluso inaparente, afecta a los sistemas respiratorio, reproductivo y nervioso. La sintomatología varía de acuerdo con la edad de los animales afectados. Las cerdas en desazón pueden abortar o dar a luz fetos muertos o momificados. La infección es a menudo mortal para las crías porcinas, en ellas hay pirexia y parálisis, seguida de coma y muerte, que puede sobrevenir entre 6 y 24 horas. Se achaca a los cerdos y ratas el contagio y diseminación a ruminantes y a otros animales domésticos (12, 20).

Este padecimiento es mortal, pero no contagioso en bovinos, ovinos, perros y gatos. En ellos es común el prurito intenso y rascado, lamida o mordedura y en casos graves automutilacio-

nes en el área de piel afectada e incluso miembros completos, — siendo común en animales de laboratorio. Este signo se considera patognomónico de la enfermedad (11).

El virus alcanza los nervios periféricos de la zona afectada y viaja en dirección centripeta hacia el sistema nervioso central, atacando al encéfalo y a la médula espinal, lo cual es causa de encefalitis en el animal, así como temblores, convulsiones, parálisis, coma y muerte, en un cuadro clínico parecido al de la Rabia, razón por la cual recibe el sinónimo de "Pseudorabia" (2, 11, 20).

Las lesiones en los animales no son constantes, pero en la piel se pueden localizar, en algunos casos, zonas hiperémicas, edematosas y necróticas e incluso mutiladas. Por otra parte, hay congestión en las meninges y acumulación de líquido cefalorraquídeo, en los pulmones se encuentran hemorragias y edema, que también se llegan a presentar en los riñones y en el pericardio, en ocasiones hay esplenomegalia y focos necróticos en el bazo e hígado. Por medio de la microscopía se descubre la muerte o degeneración neuronal, así como la existencia de corpúsculos de inclusión intranucleares acidófilos e infiltración leucocitaria perivascular (3, 12).

Los animales que se recuperan exhiben anticuerpos neutralizantes en suero y calostro. En el mercado existen vacunas que evitan las manifestaciones clínicas de la enfermedad (3, 7, 15).

El diagnóstico clínico en rumiantes es mas acertado que en los porcinos, en los cuales se utiliza con frecuencia la inoculación a conejos, quienes presentan prurito entre tres y siete días en caso de existir una reacción positiva. También se disponen de pruebas serológicas de laboratorio, como son: Neutralización, Fijación de C', Inmunofluorescencia y Difusión en gel, entre otras (7, 12).

El control es muy difícil en nuestro medio, además de que no se han descrito medidas realmente prácticas y efectivas (12). La inmunidad es importante como medida profiláctica de esta enfermedad. Esta inmunidad es de dos tipos, una humoral y la otra celular. La inmunidad de modalidad humoral, es conferida por linfocitos " B ", que al ser sensibilizados por el antígeno, evolucionan a células plasmáticas que sintetizan anticuerpos específicos contra el antígeno que propició su formación (17, 19).

La inmunidad celular, que está a cargo de los linfocitos " T " (dependientes del timo) juega un papel importante en aquellas enfermedades que son causadas por parásitos intracelulares, como son los virus (17, 19).

Las células T también reaccionan a los antígenos por diferenciación y división, en consecuencia aparecen dos poblaciones, una de células de memoria y otra de células efectoras que liberan diversos factores, entre los cuales destacan las linfocinas. Los linfocitos T sensibilizados, en una respuesta secundaria reconocen específicamente al antígeno y liberan linfocinas. Algu

nas de éstas sustancias como la Linfotoxina, Citolinfotoxina, Factor de Transferencia (FT), etc., son específicas. Otras de ellas son inespecíficas como el Factor Quimiotáctico, Factor de Inhibición de Macrófagos, etc. Las linfocinas actúan sobre diversas poblaciones celulares (17).

El Factor de Transferencia fue descubierto por Lawrence - en el año de 1955, (9) en sus trabajos encontró que los extractos leucocitarios tienen la capacidad de transferir inmunidad celular a individuos susceptibles y que los extractos procedentes de leucocitos humanos podían dialisarse y el producto con peso molecular de menos de 10,000 Daltones conservaba su capacidad de transferir inmunidad celular, teniendo la ventaja de no contener sustancias antigénicas que produjeran respuestas indeseables aun en dosis repetidas (4, 6, 9, 14, 16).

El Factor de Transferencia se ha empleado con éxito en diversas enfermedades, ya sea bacterianas, virales, parasitarias, inmunodeficientes e incluso algunas neoplasias entre ellas; como ejemplos se pueden mencionar la Tuberculosis, Candidiasis, Lepra, Varicela, Herpes, Toxoplasmosis, Melanoma, etc. En todas estas enfermedades, la inmunidad celular es de gran importancia (4, 5, 8, 9, 13, 14, 16, 18, 19).

El Factor de Transferencia (extracto dializable con peso molecular menor de 12,000) induce rápidamente un estado de inmunidad celular activa y específica en las células del receptor, a juzgar por la capacidad de éstas células para reaccionar especi-

ficamente con un antígeno y de producir por sí mismas más Factor de Transferencia que puede sensibilizar a nuevas células de otro individuo específicamente contra el mismo antígeno original (4, 17).

El Factor de Transferencia Específico otorga al receptor la capacidad de respuesta inmune celular contra el antígeno específico al cual es sensible el donador, y aumenta aunque en menor grado la respuesta celular inespecífica (4, 9).

La sustancia dializable, responsable de la actividad del Factor de Transferencia, tiene una naturaleza polipeptídica (14, 17), aunque se ignora su exacta constitución (9, 17).

No se afecta por la A D N asa o la A R N asa, es estable por tiempo indefinido a bajas temperaturas y no es antigénica - (9, 14, 17). El Factor de Transferencia no es un anticuerpo, ya que se obtiene solamente a partir de extractos de linfocitos y no neutraliza in vitro al antígeno que indujo su formación (4, 9, 17). El mecanismo mediante el cual compromete o induce inmunidad celular en los animales receptores, aun se desconoce (4, 17, 19) pero su efectividad está demostrada con antígenos que motivan inmunidad de tipo celular como se ha observado en casos de infecciones por virus Herpes (14, 15), Tuberculosis (4, 9), Coccidiodomicosis (5, 8, 13, 18, 19), Leucemia y Linfoma complicados con Varicela (5), Cardidiosis (17), Leishmaniasis (18), etc.

Se supone, aunque no se ha comprobado, que el Factor de -

Transferencia actua sobre linfocitos no comprometidos, promoviendo su reacción específica, o bien "reclutando" linfocitos comprometidos con el antígeno en cuestión, que por alguna razón no hubieran tenido una respuesta adecuada ulterior, además de tener una actividad inmunomoduladora inespecífica (4).

HIPOTESIS: Si el Factor de Transferencia se ha aislado de algunas especies animales y empleado con buenos resultados en algunas enfermedades, es factible obtenerlo de individuos hiperinmunizados (cerdos y ratones). Este Factor de Transferencia inoculado a otros sujetos susceptibles, ofrecerá a ellos resistencia específica contra el virus Herpes de la enfermedad de Aujeszky.

OBJETIVO: El objetivo del presente trabajo es la demostración, mediante modelos animales, cerdo y ratón, de que el Factor de Transferencia puede ser producido por ellos y utilizado en sus congéneres con fines preventivos a la enfermedad de Aujeszky.

MATERIAL Y METODOS

El estudio aquí mencionado tuvo lugar en los laboratorios del Departamento de Inmunología y Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Así mismo los cerdos fueron alojados en un local de aislamiento de Enfermedades Infecciosas de la propia Facultad.

Se contó con 32 ratones de la cepa C57 BL/6 Ar de seis y tres semanas de edad procedentes del biotério del propio departamento y cinco cerdos de 120 y 30 días de edad, machos de la raza Landrace fl, procedentes de la Granja Porcina de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en Zapotitlán, Tlahuac.

Hiperinmunización de Animales Donadores.

Se vacunaron repetidamente (cinco veces) a dos cerdos de cuatro meses de edad, machos de la raza Landrace fl y a ocho ratones de la cepa C57 BL/6 Ar de seis semanas de edad con una vacuna emulsionada a base de virus muerto⁺ contra la enfermedad de Aujeszky, con un título de 50 Dosis Protectoras de Campo por ml (D P C / ml), a una dosis de 2 ml para porcinos y 0.1 ml para ratones. Posteriormente se desafiaron con virus de la enfermedad de Aujeszky a títulos de 1,000 Dosis Infeccioso Ratón 50% por ml (D I R 50 / ml) para los cerdos, por vía intranasal y 100 D I R 50 / ml por vía intramuscular para los ratones. A continuación + "Novivac Aujeszky" Laboratorios Serva.

se colectó sangre de los ejemplares, 250 ml de cada cerdo, por -- punción yugular y entre 0.8 y 1.5 ml por cada ratón, en dos oca-- siones por punción intracardial bajo anestesia con éter, obtenien-- dose un total de 20 ml. Para la preservación de ésta sangre, se mezcló con cantidades equivalentes de solución Alsever.

Tanto las vacunaciones como el desafío y sangrado se ri-- gieron conforme al calendario del cuadro 1.

Obtención del Factor de Transferencia.

Se trabajó la técnica descrita por Padierna (13), que -- consiste en lo siguiente:

- 1.- Se obtienen 500 ml de sangre de los cerdos hiperinmu-- nes, la cual se centrifuga a 500 g durante 15 minutos con el fin de separar los eritrocitos y obtener los -- leucocitos en el sobrenadante.
- 2.- El sobrenadante se centrifuga a 5,000 g durante 30 mi-- nutos a una temperatura de 4° C , el sedimento se co-- lecta en 10 ml de Solución Salina Amortiguada (TRIS - HCl) pH 7.4 .
- 3.- Este sedimento se somete a congelación y descongela-- ción rápida, de -70° hasta 37° C en baño María, alter-- nándose 10 veces.
- 4.- El material obtenido se coloca en una bolsa de diáli-- sis que permita la salida de partículas con peso mole-- cular menor de 12,000 (Spectrapor #4). La diálisis -- se efectuó contra 100 ml de agua bidestilada estéril,

la sustancia resultante que contiene el Factor de --- Transferencia, se conserva a -70° C hasta su uso en - animales susceptibles.

En cuanto a la sangre de ratón, el procedimiento se efectuó en forma similar, sólo variaron las cantidades de sangre, solución salina amortiguada y agua bidestilada, siendo 20, 3, y 10 ml respectivamente.

Inovulación del Factor de Transferencia en Animales y Exposición con el Virus Virulento.

Una unidad de Factor de Transferencia es el extracto procedente de 500 ml de sangre entera de un individuo hiperinmune a cierta enfermedad contra la cual se prepara dicha sustancia (3, 13, 17). En cada una de las tres aplicaciones en un nuevo cerdo susceptible (# 1), se dosificó a razón de 0.1 unidades de Factor de Transferencia. Otro compañero de camada (# 2) sirvió como - testigo, no fue expuesto al antígeno, ni protegido en forma alguna antes del desafío con virus virulento. Ambos animales contaban con seis semanas de edad aproximada al iniciar la prueba con la primera dosis de Factor de Transferencia. Un día antes se les tomaron sendas muestras sanguíneas para biometría hemática formula blanca. Practicadas en el Laboratorio Clínico del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, con el fin de conocer su estado inmunológico, los resultados se - reproducen en el cuadro 3. Adicionalmente se cortó con un tercer cerdo que se vacunó previamente a su inclusión a ésta etapa del -

experimento, el cual contaba en ese momento con tres meses de edad (día cero).

También se inocularon ratones con el Factor de Transferencia. Se formaron tres lotes de ocho animales cada uno, con una edad de aproximadamente 21 días. El lote # 1 se inoculó a una dosis de 0.001 unidades de Factor de Transferencia por semana, por ratón por vía intramuscular, durante tres semanas. El lote # 2 se dejó sin inocular, fungiendo como testigo. El lote # 3 se inoculó por vía intramuscular con 0.8 ml el material no dialisado que quedó dentro del saco de diálisis al preparar el Factor de Transferencia (material con peso molecular mayor de 12,000).

Los animales tratados con los dos diferentes productos de la diálisis y los testigos se expusieron al virus virulento a razón de 1,000 D I R₅₀ / ml por vía intranasal para cerdos y 100 D I R₅₀ / ml por vía intracerebral a ratones, siete días después de la última administración de Factor de Transferencia. El cuadro 2 resume el procedimiento de inoculación con Factor de Transferencia y la exposición con el virus virulento.

Pruebas Diagnósticas.

Seroneutralización (inhibición de focos citopáticos) . Consistió en inocular cultivos celulares de la línea P K - 15 , con mezclas de suero de los porcinos y virus, a diferentes diluciones del primero y cantidades constantes del segundo (diluciones triples 15, 45, 135, 405, 1,215 del suero y 100 dosis infec-

tantes de cultivo celular de virus de la enfermedad de Aujeszky). En todos los casos, la prueba se corrió con testigos de cultivos celulares de la línea P K - 15 inoculados con mezclas de 100 dosis infectantes de cultivo celular 50% de virus de la enfermedad de Aujeszky y volúmenes iguales de solución balanceada de Hank.

Inmunofluorescencia. Se siguió el procedimiento estándar del Depto. de Inmunología y Virología de la Fac. de Med. Vet. y Zootec. que consiste en lo siguiente: Se extraen los cerebros de los animales que murieron o se sacrificaron después de la inoculación del virus de desafío. Se hace una impronta de tejido cerebral procedente de un animal que se conoce que sea negativo, se hacen impresiones de los cerebros sospechosos, se delimita cada impresión sobre el cristal con un lápiz grueso y se identifica. Enseguida se sumerge para su fijación en acetona refrigerada, durante 15 min., después de éste tiempo se dejan secar las laminillas y se agrega una gota de conjugado sobre la impronta, sin sobrepasar el área delimitada, se incuba a 37° C durante 30 min. en cámara húmeda, se lava durante 5 min. en solución salina bufferada y luego agua destilada, se dejan secar al aire y se observan al microscopio de luz ultravioleta, comenzando con los ejemplares testigos para asegurarse de que funciona adecuadamente el conjugado y el resto de la técnica. Se procede entonces a observar las impresiones del material sospechoso.

RESULTADOS

Los resultados de la protección conferida por el Factor de Transferencia en cerdos y ratones, se resumen en el cuadro 4.

Tras la inoculación intranasal de 2 ml de virus activo de la enfermedad de Aujeszky a un cerdo vacunado contra la enfermedad, a otro que recibió tres dosis de Factor de Transferencia y uno más sin protección alguna (testigo), se observó que durante los primeros tres días ninguno presentó signos clínicos. Al cuarto día la temperatura rectal aumentó en los tres animales a 41.1° C, 40.5° C y 41.5° C respectivamente. El primer animal (vacunado), presentó vómito y anorexia. Los signos se mantuvieron iguales durante el cuarto día. Al quinto día posterior al desafío, el cerdo testigo mostró una temperatura rectal de 41.8° C y los otros dos permanecieron estables. Para el sexto día se notó emaciación y signos nerviosos en el animal testigo. Durante el séptimo día, las temperaturas rectales en los animales fueron de: 39.3° C en el vacunado, 37.0° C en el inoculado con Factor de Transferencia y de 36.4° C en el testigo, en los dos primeros ya se notaba buen apetito y en el animal susceptible se veían señales de cianosis en mucosas y piel. Durante la madrugada del octavo día el cerdo testigo murió, mientras los dos restantes se mostraban algo molestos por un ligero prurito en los costados que mitigaban frotándose contra la pared. El noveno día se encontró al animal vacunado, con pequeñas laceraciones en la trompa y patas, muy probablemente autoinfringidas por el prurito. Posteriormente, a partir de entonces y a lo largo de catorce días adicionales de

observación permanecieron normales en cuanto a su comportamiento, signos y funciones vitales hasta su sacrificio a los seis meses de edad.

El cerebro del animal afectado se conservó en congelación hasta el sacrificio de los dos sobrevivientes para correr en los tres cerebros la prueba de inmunofluorescencia directa, con resultado positivo en el testigo y negativos los otros dos ejemplares, como se muestra en el cuadro 5.

También se efectuó la prueba de seroneutralización, tomándose muestras de suero del cerdo tratado con factor de transferencia y desafiado con virus activo. Los resultados de ésta prueba también se contemplan en el cuadro 5.

Así mismo el cuadro 4 resume los resultados de supervivencia a la exposición viral que arrojó el experimento en ratones. En el lote # 1 murió un animal durante la etapa de aplicación del Factor de Transferencia, el resto de el lote resistió la exposición con el virus virulento y no presentaron signos clínicos durante el periodo de observación de 12 días después del desafío. Los animales testigos, no tratados, mostraron signos y mortalidad desde un día después de la inoculación con el virus virulento. - La mortalidad mayor se presentó entre el tercero y cuarto días - posteriores a la exposición viral. El grupo de animales que recibieron el material no dializable se comportaron en forma semejante a los testigos; un animal falleció un día después de la inoculación del virus activo, seis ratones más en el quinto día y -

el animal restante murió en el séptimo día después de un estado — de franco decaimiento.

En los dos últimos lotes, después de la inoculación viral y hasta su muerte, se pudo observar decaimiento progresivo, letar go, incoordinación y un leve prurito no constante en todos los ani males, ni al sitio de presentación.

Los cerebros de los ratones sobrevivientes, así como los de los que sucumbieron al desafío viral, fueron examinados con — anticuerpos fluorescentes, encontrando todos los especímenes nega tivos cuando provenían de ratones sobrevivientes y positivos. — aquellos que pertenecieron a los animales que murieron como conse cuencia de la exposición con el virus virulento, con excepción de un animal del lote # 2 y uno más del lote # 3 . Los hallazgos se encuentran resumidos en el cuadro 5.

DISCUSION

Los resultados de este trabajo indican que un extracto de linfocitos circulantes, al que se ha llamado Factor de Transferencia y que se obtuvo de animales hiperinmunizados, confiere protección específica contra la exposición de 1,000 y 100 D I R 50/ ml. del virus virulento de la enfermedad de Aujeszky, a cerdos y ratones respectivamente (4,5,6,8,9,13,16).

La protección fue conferida por la fracción dializable de dicho extracto, con un peso molecular inferior a 12,000 como mencionan Dune, (3) y Estrada, (4). Lo anterior se confirma por el hecho de que los ratones que fueron tratados con la fracción no dializable (partículas de peso molecular superior a 12,000) no fueron protegidos ante la exposición con el virus virulento.

El factor de transferencia fue descrito por primera vez - por Lawrence (9) en 1954, quien logró la transferencia pasiva de hipersensibilidad en el hombre, no sólo con células vivas (linfocitos circulantes) sino, también con extractos-dialisables de dichas células. Varios investigadores (4,5,13) han utilizado con fines prácticos las propiedades observadas en el Factor de Transferencia, esto es que el receptor adquiere la capacidad de reaccionar específicamente ante un antígeno dado, pocas horas después de la recepción del extracto leucocitario y que la reactividad -- persiste durante meses o aun años (14).

Según Estrada (4), por medio de investigación cromatográ-

fica se han separado fracciones con diferente actividad biológica, la actividad específica del Factor de Transferencia que atribuye a un nucleopéptido de peso molecular de 1,600.

En medicina veterinaria se ha trabajado poco a éste respecto. En México posiblemente éste sea el primer trabajo sobre el tema. Dentro de los pocos trabajos que se han hecho en otros países con el Factor de Transferencia en el campo médico veterinario pueden mencionarse brevemente: Tuberculosis aviar (6), Diarrea de los lechones por E. coli (8), Tuberculosis y Brucelosis en bovinos (14), resistencia al parásito Trichostrongylus colubriformis en cuyes (16), estudios de compatibilidad del Factor de Transferencia procedente de una especie y actuando en otra especie: hombre-mono, hombre-cuyo, hombre-ratón, bovino-perro, conejo-mono etc. (14).

Tizard (17), menciona que el Factor de Transferencia no se ha detectado en roedores, sin embargo, el dialisado linfocitario de ratones dió resultado protegiendo específicamente a otros ratones, lo cual demuestra que esta especie es capaz de producirlo.

En esta investigación se observó que el ratón resultó ser un modelo biológico adecuado para trabajar con el Factor de Transferencia, aunque tiene la desventaja de ofrecer poca sangre para la obtención del lisado, tiene las ventajas de su economía, bajo requerimiento de espacio y alimento, ofrece una

respuesta adecuada a la exposición de vacunas, lisados, virus de campo, etc. Además pueden conseguirse lotes numerosos con características uniformes. Los animales que recibieron el Factor de Transferencia anterior a la exposición al virus virulento, sobrevivieron y soportaron el desafío en forma satisfactoria, no así aquellos animales que recibieron la fracción intraleucocitaria que no dializó. Sería conveniente investigar más a fondo el lisado crudo.

La enfermedad de Aujeszky es producida por un virus Herpes, la reacción del organismo a estos agentes, es producir inmunidad tanto humoral como celular, ésta última juega un papel muy importante como puede demostrarse aquí y en las observaciones de algunos autores (3, 7, 10, 15). La presencia del virus Herpes en mamíferos tiende a producir infecciones latentes que pueden hacerse clínicas cuando el huésped sufre algún debilitamiento -- (12). En el caso del cerdo, cuando se infecta con virus de la enfermedad de Aujeszky, no hay recidivas ya que los animales son más susceptibles mientras más jóvenes, situación que se pudo observar fuera del protocolo de investigación, al inocular murinos mayores de ocho semanas sin que se presentara la enfermedad (3, 12, 19). La enfermedad en cerdos se transmite tanto vertical como horizontalmente (3, 12).

La epidemiología y transmisión natural de la enfermedad no están determinadas claramente (3). La transmisión en bovinos generalmente es por penetración del virus por alguna solución de

continuidad en la piel o las mucosas. Se sabe que las ratas y los cerdos diseminan al virus y lo adquieren rápidamente por vía oral. Shope, resalta la presencia del virus en la secreción nasal del cerdo como fuente de infección para otros porcinos y además bovinos (11, 12). Independientemente de las vías de penetración, oral y cutaneomucosa, se sabe que animales susceptibles enferman luego de la inoculación intranasal de secreciones nasales. El virus se ha localizado también en la saliva, orina y sangre, aunque no se ha encontrado a esto alguna importancia epidemiológica. Los cerdos pueden eliminar el virus por las secreciones nasofaríngeas por espacio de dos semanas, pero en otras especies es estrictamente neurotrófico (2, 3, 11).

Por lo anterior, sería de gran utilidad e interés académico, determinar si la inmunidad y protección que confiere el Factor de Transferencia permite a los animales quedar libres de la infección, ya que se sabe que mediante la vacunación se puede prevenir la manifestación clínica de la enfermedad, pero no que los animales se infecten y sean portadores mediante los mecanismos señalados (3, 12).

Es igualmente importante que mediante pruebas cualitativas y cuantitativas de inmunidad celular, como son: Factor Inhibidor de la Migración (F I M), Rosetas y Multiplicación de Linfocitos, se determine la dinámica de este tipo de inmunidad que se presenta después de la adquisición pasiva de protección por el Factor de Transferencia.

Hasta la fecha todos los trabajos sobre el Factor de Transferencia indican que éste es inocuo, y que puede aplicarse sin riesgo alguno ya sea de origen homólogo o bien heterólogo, ya que a diferencia de los sueros hiperinmunes, no contienen partículas antigénicas que pueden causar sensibilización en el receptor (4, 14, 17).

Sería benéfico obtener datos acerca de la necesidad de nuevas aplicaciones de Factor de transferencia, y además determinar la duración de la protección que proporciona a niveles confiables y la posibilidad de su empleo generalizado, ya que su obtención es relativamente sencilla, así como fácil su conservación por tiempo indefinido.

Las referencias consultadas respecto al Factor de Transferencia en medicina humana, hacen vislumbrar grandes esperanzas en varios casos de enfermedades difíciles y crónicas como Tuberculosis, Varicela, Coccidiomicosis, Candidiasis, Leishmaniasis, etc. En este trabajo se observó que el Factor de Transferencia puede aplicarse a nivel preventivo. Sin embargo, aún falta mucho por estudiar con respecto a esta sustancia; por ejemplo, determinar la dosis mínima preventiva y curativa, conocer su acción, como llega a comprometer a otras células responsables de inmunidad celular y las induce a formar nuevo Factor de Transferencia, sus consecuencias a largo plazo y mil interrogantes más que irán surgiendo a medida que se tenga mayor conocimiento de él.

Queda entonces un campo muy amplio para la investigación,

no sólo en relación con la enfermedad de Aujeszky, sino con muchas otras enfermedades y en muchas de las especies domésticas.

CONCLUSIONES

Los resultados encontrados en este trabajo, confirman las observaciones de otros investigadores, que muestran la eficacia -- del Factor de Transferencia para conferir inmunidad por medio de una fracción que tiene características diferentes a las de los -- anticuerpos y que se obtiene a partir de lisados de leucocitos -- circulantes de individuos hiperinmunizados.

Los modelos animales porcino y murino demostraron que el Factor de Transferencia se puede emplear con éxito para proteger a estas mismas especies contra la enfermedad de Aujeszky.

Cuadro 1 CALENDARIO DE HIPERINMUNIZACION DE ANIMALES DONADORES.

Dosis	1ra.	2da.	3ra.	4ta.	5ta.	.	.	.
Día	0	4	7	14	17	23	28	31
Cerdo 1	V	V	V	V	V	D	S	
Cerdo 2	V	V	V	V	V	D	S	
Ratones								
(8)	V	V	V	V	V	D	S	S

- V = Vacunado con vacuna emulsionada de virus muerto, 50 D P C, para cerdos 2 ml y para ratones 0.1 ml por vía intramuscular.
- D = Desafiado con virus activo Aujeszky a títulos de 1,000 D I R 50% / ml a porcinos por vía intranasal y 100 D I R 50% / ml a murinos por vía intramuscular.
- S = Sangrados, a razón de 250 ml cada cerdo por punción en la vena cava anterior y entre 0.8 y 1.5 ml por punción intracardíaca bajo anestesia, en dos ocasiones obteniéndose un total de 20 ml de sangre murina.

Cuadro 2 CALENDARIO DE INOCULACION CON EL FACTOR DE TRANSFERENCIA EN LOS ANIMALES RECEPTORES.

Dosis		1ra.	2da.	3ra.	
Día	-30+	0	7	14	21
Cerdo 1		FT	FT	FT	D
Cerdo 2.		-	-	-	D
Cerdo 3	V+	-	-	-	D
Ratones					
Lote 1 (8)		FT	FT	FT	D
Lote 2 (8)		-	-	-	D
Lote 3 (8)		ND	ND	ND	D

V+ = Vacunado con vacuna emulsionada de virus muerto con 50 D P C 2 ml, un mes anterior al día cero (1ra dosis de Factor de Transferencia).

FT = Inoculado con Factor de Transferencia, a razón de 0.1 unidad por dosis porcina y 0.001 unidad por cada dosis murina.

ND = Inoculado con material no dializable (partículas mayores de 12,000 de peso molecular) a una dosis de 0.8 ml por cada aplicación.

D = Desafiado con virus activo Aujeszky a títulos de 1,000 D I R 50% / ml en porcinos por vía intranasal, y 100 D I R 50% / ml a murinos por vía intracerebral.

Cuadro 3 BIOMETRIA HEMATICA; FORMULA BLANCA DE LOS CERDOS
 ANTES DE RECIBIR EL FACTOR DE TRANSFERENCIA.+

Cerdo	Leucocitos	Linfocitos	Segmentados	Eosinófilos
1		49%	49%	2%
	8,750/mm ³	4,287/mm ³	4,287/mm ³	175/mm ³
2		49%	50%	1%
	9,100/mm ³	4,459/mm ³	4,550/mm ³	91/mm ³
Valores nor		39-62%	28-47%	0.5-11%
males.**	11,000-22,000	5,000-10,000	4,000-7,500	0-1,500
	/mm ³	/mm ³	/mm ³	/mm ³

+ Practicada por el Laboratorio Clínico del Departamento de Patología de la Fac. de Med. Vet. y Zotec. a dos cerdos de la misma camada de 6 semanas de edad, machos, de raza landrace f1, - un día antes del inicio de la administración del Factor de Transferencia en uno de ellos (el cerdo vacunado no se incluyó en esta prueba).

** Valores proporcionados por el Laboratorio Clínico.

Cuadro 4. RESULTADOS DE SOBREVIVENCIA AL DESAFIO VIRAL EN CERDOS Y RATONES TRATADOS CON FACTOR DE TRANSFERENCIA OBTENIDO DE LEUCOCITOS DE ANIMALES HIPERINMUNIZADOS A LA ENFERMEDAD DE AUJESKY.

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14
Cerdo 1	D	/	/	/	SL	SL	SL	SL	SL	/	/	/
Cerdo 2	D	/	/	/	SL	SL	SG	SG	Y			
Cerdo 3	D	/	/	/	SL	SL	SL	SL	SL	SL	/	/
Ratones :												
Lote 1												
7/8	D	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
1/8	Y+											
Lote 2												
1/8	D	X										
3/8	D	/	/	Y								
3/8	D	/	/	SL	Y							
1/8	D	/	/	/	Y							
Lote 3												
1/8	D	X										
1/8	D	/	/	SL	SL	Y						
3/8	D	/	/	/	SL	Y						
1/8	D	/	/	/	SG	Y						
1/8	D	/	/	/	/	Y						
1/8	D	/	/	/	SL	SL	SG	Y				

D = Desafiado con virus activo de la enfermedad de Aujesky a títulos de 1,000 D I R 50% / ml en porcinos por vía intranasal, y 100 D I R 50% / ml a murinos por vía intracerebral.

/ = Animales sin signos clínicos aparentes.

SL = Con signos clínicos leves.

SG = Con signos clínicos graves.

Y = Animales que murieron.

Y+ = Murió después de la primera dosis de FT.

Cuadro 5 RESULTADOS DE PRUEBAS DIAGNOSTICAS.

Prueba	Seroneutralización	Inmunofluorescencia
Cerdo 1 Tratado c/ FT	(-)	(-)
desafiado c/ virus activo	(-)	.
Cerdo 2 Testigo	(-)	(+)
Cerdo 3 Vacunado		(-)
Ratones		
Lote 1 Tratado c/ FT		7/8 (-)
Lote 2 Testigo		7/8 (+), 1/8 (-)
Lote 3 Tratado c/ la fracción no dializable del FT		6/8 (+), 1/8 (-)

La prueba de seroneutralización se realizó en base a la inoculación de cultivos celulares de la línea P K - 15, con mezclas de 100 Dosis Infectantes de Cultivo Celular de virus de la enfermedad de Aujeszky y diluciones triples 15, 45, 135, 405 y 1,215 de las tres muestras séricas porcinas.

Mediante la técnica de inmunofluorescencia se observaron los cerebros de los tres cerdos; 7 de los 8 ratones del lote inoculado con Factor de Transferencia; el lote testigo completo; y 7 de 8 ratones inoculados con la fracción intraleucocitaria no dializable.

LITERATURA CITADA

- 1.- Balderas, D.E.: Frecuencia y distribución de la enfermedad de Aujeszky (en cerdos) en la República Mexicana en el sexenio comprendido de 1973 a 1978. Veterinaria México. , 11 : 44 (1980).
- 2.- Beran, G.W., Davies, E.B., Arambulo, P.V., Will, L.A., Hill, H.T. and Rock, D.T. : Persistence of pseudorabies virus in infected swine. J. Am. Vet. Med. Assoc., 176: 998-1000 (1980).
- 3.- Dunne, H.W.: Enfermedades del cerdo. Editorial U.T.E.H.A. , México, 1967.
- 4.- Estrada, P.S., Velasco, C.O., Rebora, F., Díaz, M.L. y Padrierna, J. : Inmunoterapia de la tuberculosis pulmonar avanzada, con Factor de Transferencia Específico. Salud Publica de México. , 25 589-600 (1983).
- 5.- Ferrer, A., Valles, A., Velasco, C., Quiroz, G., Herrera, G., Santiago, A., Gonzalez, C. y Estrada, P. : Manejo con Factor de Transferencia de los pacientes con padecimientos hematológicos malignos complicados con varicela. Resúmenes - II congreso nacional de inmunología. Oaxtepec 1978. 103 . - Edición de la Sociedad Mexicana de Inmunología. México, 1978.
- 6.- Giambrone, J.J., Klesius, P.H. and Yu, M. : Adoptive transfer of delayed wattle reactivity in chickens with a dialyzable leucocyte extract containing transfer factor. Poultry Science. , 62 : 767-771 (1983).
- 7.- Haffer, K., Gustafson, D.P., and Kanitz, C.L.: Indirect hemagglutination test for pseudorabies antibody detection in swi-

- ne. J. Clin. Microbiol. , 11 : 217-219 (1980).
- 8.- Kumeda, Y. : Immunological influences on suckling-piglet diarrrhea upon administration of swine peripheral blood extract transfer factor. Jap. J. Vet. Res., 29: 26 (1981).
- 9.- Lawrence, H.S. : The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leucocytes . J. Clin. Invest., 34 : 219-230 (1955).
- 10.- Medina, G.L. y Correa, G.P. : Presencia de anticuerpos contra la enfermedad de Aujeszky en sueros de cerdos de diferente procedencia. Tec. Pec. Mex. , 32 : 93-96 (1977).
- 11.- Merchant, I.A. y Packer, R.A. : Bacteriología y virología — veterinarias. 3ra Edición española. Ed. Acribia , España , - 1970.
- 12.- Mohanty, S.B. y Dutta, S.K. : Virología veterinaria. Editorial Interamericana , México , 1983.
- 13.- Padierna, J., Velasco, O. y Estrada, P.S. : Obtención del — factor de transferencia específico para el tratamiento de — pacientes con coccidiodomicosis. Libro del primer congreso — nacional de inmunología. Oaxtepec. Edición de la Sociedad — Mexicana de Inmunología. México, 1976.
- 14.- Person, J.M., Lesourd, B., Poirier, J. , Edirnelis, A. , — Marescot, M.R., Thiollet, M. , Moulias, R. y Pilet, Ch. : — Production d' extraits dialysables leucocytaires chez les — bovins. — I Protocole et controles de immunisation des anima- — ux. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 4 : 47-57 (1981).
- 15.- Rosenberg, G.L. and Notkins, A.L. : Introduction of cellular immunity to herpes simplex virus: Relationship to the humoral immune response. J. Immunol. , 112 : 1019-1025 (1974).

- 16.- Ross, J.G. and Halliday, W.G. : Investigations of transfer factor activity in resistance to Trichostrongylus colubri-
formis infections in Guinea-pigs. Journal of Helminatology ,
56 : 27-35 (1982).
- 17.- Tizard, I.R. An introduction to veterinary immunology. W.
B. Saunders Co. , U.S.A. 1977.
- 18.- Velasco, C.O., Estrada, P.S. y Padierna, J. : Candidosis cutaneomucosa crónica en una lactante curada con una sola dosis de factor de transferencia específico. Libro del primer congreso nacional de inmunología. Oaxtepec; Edición de la
Sociedad Mexicana de Inmunología., México, 1976.
- 19.- Velasco, C.O., Ruiz, M.R., Berrón, R. , Santana, R., Tamayo, L., Castro, M.E., Padierna, J. y Estrada, P.S. : Tratamiento con factor de transferencia específico en leishmaniasis tegumentaria diseminada. Libro del primer congreso nacional de inmunología. Oaxtepec ; Edición de la Sociedad Mexicana de
Inmunología., México 1976.
- 20.- Wittman, G. and Hall, S.A. : Aujeszky's disease. Current topics in veterinary medicine and animal science, vol. 17 . -
Martinus Nijhoff Publishers., Netherland, 1982.