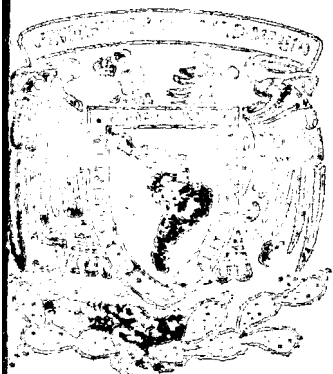


Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMEN ESPECIAL
FAC. DE QUIMICA

**INMUNOTERAPIA DE LA TUBERCULOSIS PULMONAR
AVANZADA CON FACTOR DE TRANSFERENCIA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLÓGICO
P R E S E N T A:**

JESUS ANTONIO RODRIGUEZ ROMAN





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 esta 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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

I N D I C E

	Pág.
I. OBJETIVO.	1
II. GENERALIDADES.	2
III. INMUNIDAD.	6
- Factor de Transferencia (FT).	10
- Propiedades bioquímicas del FT.	11
- Propiedades inmunológicas del FT.	11
- Mecanismo de Acción del FT	11
IV. ENFERMEDADES EN LAS QUE SE HA UTILIZADO EL FACTOR DE TRANSFERENCIA.	14
- Tuberculosis pulmonar avanzada.	14
- Clasificación clínica de la tuberculosis.	16
- Clasificación basada en las diversas etapas de actividad.	16
- Aspectos epidemiológicos.	19
V. PRUEBAS DE LABORATORIO.	23
- Determinación de células T y B.	23
- Factos inhibidor de la migración de los leuco- citos (FIL).	24
- Pruebas intradérmicas tipo Mantoux para la de- terminación de la hipersensibilidad con reac- ción retardada "in vivo".	24
- Determinación de inmunoglobulinas IgA, IgG, -- IgM, fracciones C ₃ y C ₄ del complemento.	25

	Pág.
- Coloración de Wright.	26
- Electroforesis de proteínas.	26
- Determinación de proteínas totales.	26
VI. MATERIAL Y METODOS.	28
Técnica para la determinación de:	
- Células T y B.	29
- Factor inhibidor de la migración de los leucocitos (FIL).	32
- Pruebas intradérmicas tipo Mantoux para la determinación de la hipersensibilidad con reacción retardada "in vivo".	34
- Determinación de inmunoglobulinas IgA, IgG, IgM, fracciones C ₃ y C ₄ del complemento.	35
- Coloración de Wright.	36
- Electroforesis de proteínas.	37
- Preparación de proteínas totales (método de Biuret)	38
- Preparación de factor de transferencia.	39
- Preparación de reactivos.	41
VII. RESULTADOS.	44
VIII. DISCUSION.	67
IX. CONCLUSIONES.	64
X. BIBLIOGRAFIA.	65

I O B J E T I V O S

En el presente estudio se utilizó el factor de transferencia (FT) como un recurso inmunoterapéutico en el tratamiento de tuberculosis pulmonar avanzada, aplicable a enfermos resistentes al tratamiento con antifímicos, con el fin de mejorar su respuesta inmune, acelerar el proceso de curación y por ende, disminuir el tiempo de hospitalización y el costo del tratamiento.

II GENERALIDADES

La inmunología fué considerada hasta hace poco tiempo como una rama de la Microbiología; sin embargo, su evolución ha sido tan grande en los últimos años que se ha convertido en una de las ciencias más importantes.

La profilaxis específica de la viruela se originó en el año 1721, cuando fué introducida a Inglaterra por Lady Mary Montagu [11]. Posteriormente, la variolización fué desplazada por la vacunación descubierta en el año 1798 por Jenner al observar que las personas infectadas por la viruela de la vaca quedaban protegidas contra la viruela humana.

Puede considerarse que el punto de partida de la Inmunología celular fué en el año 1882, cuando Metchnikoff en un experimento introdujo una espina de rosal en el interior de las larvas de una estrella de mar, pocas horas después observó que la espina estaba rodeada de células móviles [11, -29, 6], con esto demostró la fagocitosis y así mismo el papel esencial que desempeñan las células móviles contra agentes extraños.

Años después se observó inmunidad en ausencia de células por lo que la teoría de Metchnikoff fué muy criticada. Von Behring y Kitasato en el año 1890 [25], demostraron la -

actividad antitóxica neutralizante de los sueros de animales inmunizados con toxina diftérica e infirieron que en el suero de esos animales existía una substancia capaz de conferir protección, la cual se consideró como la primera prueba de la inmunidad humoral.

En el año 1909, Heilmontz logró por primera vez la -- transferencia pasiva de hipersensibilidad con reacción retar dada utilizando sangre desfibrinada de un cobayo tuberculino positivo a un cobayo tuberculino negativo.

En el año 1942, Landsteiner y Chase transfirieron hi persensibilidad en cobayos utilizando células vivas obteni-- das del exudado peritoneal de un cobayo sensibilizado con -- cloruro de pícrilo, siendo el antecedente de la inmunotera-- pia experimental, la cual ha evolucionado intensamente en -- los últimos años.

En el siguiente cuadro se presentan los inmunoestim lantes que se utilizan en la práctica inmunológica tanto en -- el campo médico especializado común, como a nivel experimen-- tal. Sin embargo este estudio tratará solo sobre uno de --- ellos, el factor de transferencia (FT) y su utilización en -- la inmunoterapia de la tuberculosis pulmonar crónica, activa, avanzada, resistente a los antifímicos.

INMUNOTERAPICOS MAS UTILIZADOS EN LA ACTUALIDAD EN DIVERSAS ENFERMEDADES (1)

Nombre del producto.	Especificaciones	Mecanismo de acción	Enfermedades en las que se utiliza	Vía de administración	Reacciones indeseables
BCG	Cepa atenuada de <i>Mycobacterium bovis</i> .	Actúa estimulando el sistema retículo endotelial. Además activa las células K inespecíficas	Profilaxis de la tuberculosis, melanoma maligno, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena crónica, linfomas, cáncer de colon	Inyección intradérmica, por escarificación, administración oral.	Se ha observado la aparición de escalofríos, fiebre y malestar algunas horas después de la inyección.
MER	Es una subfracción del BCG, extraída con metanol.	Parece disminuir la frecuencia y el tamaño de los tumores.	Tumores sólidos y leucemia aguda.	Igual que en el BCG	Desconocidas
Pared celular del BCG	Es una subfracción del BCG.	La pared celular del BCG adsorbida en gotitas de aceite provoca la regresión de hepatomas	Solo han sido investigadas en hepatomas de cobayos.	Subcutánea en cobayos.	Desconocidas
PPD	Derivado proteico purificado	Desconocido	Neoplasias primarias o metastasis secundarias	Inyección intralésional	Desconocidas
DNCB	Dinitroclorobenceno.	Sensibilizador quimiotópico.	Tumores primarios de la piel o metastasis secundarias.	Inyección intralésional.	Desconocidas

<i>Corynebacterium parvum.</i>	Inactivada con formaldehido y calor	Previene el desarrollo de los tumores, e inhibe la diseminación tumoral. También parece ser que actúa activando los macrófagos.	Diversos tipos de cáncer pulmonar y de metástasis de carcinoma mamario	Oral o inyección intraleSIONal.	Disminuye la función de las T.
Levamisol	Derivado sintético del tetramisol.	Mecanismo desconocido, pero se proponen efectos sobre los macrófagos y los linfocitos. Aumenta la Quimiotaxis y la fagocitosis de los monocitos e intensifica la respuesta de los linfocitos.	Herpes labial y genital, estomatitis aftosa, infección estafilocócicas crónicas, - artritis reumatoide.	Vía oral	Granulocitopenia reversible después de suspender la terapéutica.
Acido ribonucleico inmunitario.	Es un factor químico sintetizado por el epitelio del timo.	Desempeñan un papel principal en la regulación y diferenciación de células T.	Enfermedades autoinmunitarias, tratamiento del cáncer.	Perenteral	Desconocidas
Factor de Transferencia.	Extracto de bajo peso molecular, dializable de leucocitos.	Se ha propuesto que actúa sobre alguna célula progenitora la cual podría tener especificidad para algún antígeno.	Enfermedades por deficiencia inmunitaria, enfermedades infecciosas, cáncer.	Vía subcutánea.	Hay reportes de anemia hemolítica después de la terapéutica con FT.

I I I. I N M U N I D A D

A pesar de que sabemos que la inmunidad funciona como un proceso integral, se ha dividido en dos grandes áreas: humoral y celular.

Según Roitt, la correlación entre "ambos tipos" de inmunidad se observa en el esquema No. 1.

Los efectores de la inmunidad celular son los linfocitos T, que habiendo sido sensibilizados por un antígeno -- pueden ser activados por éste en una segunda estimulación, e incrementar su división hasta formar linfocitos sensibilizados que producen mediadores solubles llamadas linfocinas que son los mediadores de la inmunidad celular. [31].

Uno de los principales mecanismos de eliminación de microorganismos es la fagocitosis. Los microorganismos fagocitados mueren y son degradados dentro de las células por enzimas contenidas en los lisosomas.

Los parásitos intracelulares, han desarrollado mecanismos que aseguran su supervivencia dentro de las células. Tal es el caso de M. tuberculosis, M. leprae, Listeria monocitógena, Brucella abortus, etc., capaces de producir enzimas del tipo de la catalasa, las cuales destruyen los superóxidos del macrófago.

Los macrófagos facilitan la sensibilización de una -

población de linfocitos T, que maduran en el tejido linfoide regional y son liberados a la circulación, donde en presencia del antígeno específico se dividen y se transforman en linfocitos sensibilizados que sintetizan y liberan factores solubles ya mencionados (linfocinas), cuya función se resume en la siguiente forma:

a) Mediadores que afectan a los macrófagos:

Factor inhibidor de la migración de los macrófagos (FIM)

Factor activador de los macrófagos (FAM)

Factor quimiotáctico para macrófagos (FQ)

b) Mediadores que afectan a los leucocitos polimorfonucleares.

Factores quimiotácticos para neutrófilos, eosinófilos y basófilos.

Factor inhibidor de la migración de los leucocitos (FIL)

c) Mediadores que afectan a los linfocitos.

Factores mitógenos

Factores que afectan a la producción de anticuerpos (FIg)

Factor de transferencia (FT)

d) Factores que afectan a otros tipos celulares

Factores citotóxicos: Linfotoxina

Factores inhibitorios del crecimiento

Factor inhibitorio clonal

Factor inhibitorio de la proliferación

Factor activante de los osteoclastos

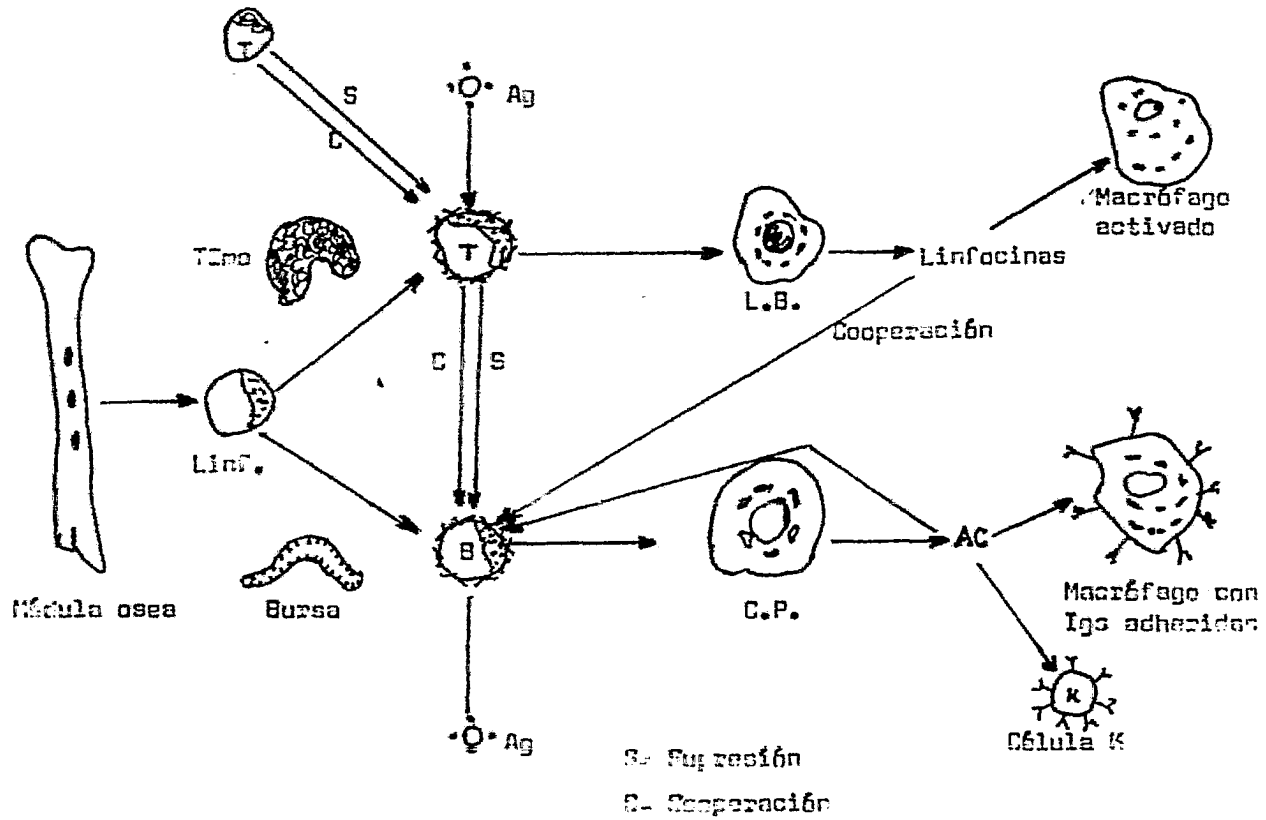
Interferón

Factor de reactividad cutánea (FRC)

Factor estimulante de las colonias

ESQUEMA No. 1

ESQUEMA SIMPLIFICADO PARA LA REGULACION DE LA RESPUESTA INMUNE MODIFICADO POR ROITT.



Tomado de Roitt I. M., Essential Immunology. 4a. ed. Blackwell Sci. Pub. Great Britain. P: 249.

FACTOR DE TRANSFERENCIA (FT)

Es uno de los agentes inmunoterápicos de mayor uso y aún es contravertido, se describió en el año 1954 (19), cuando H. Sherwood Lawrence logró la transferencia de hipersensibilidad con reacción de tipo retardado a la tuberculina y a la sustancia M del estreptococo, mediante la inyección de un extracto de leucocitos sensibilizados provenientes de un donador positivo, y lo denominó factor de transferencia (FT). Anteriormente, en el año de 1949 había transferido pasivamente a humanos, la hipersensibilidad con reacción de tipo retardado a la tuberculina a partir de los leucocitos de sangre periférica de un individuo con reacción positiva a la intradermo-reacción específica, a un individuo con reacción negativa.

El FT es capaz de transferir inmunidad celular de un donador con respuesta positiva a pruebas cutáneas, a un receptor con respuesta negativa a dichas pruebas (11).

PROPIEDADES BIOQUÍMICAS DEL FT.

Bioquímicamente se ha caracterizado como una sustancia dializable, con un peso molecular inferior a 10,000 daltons, liofilizable, soluble en agua, y estable a 56°C durante 30 minutos y a la acción de la pronasa. (11, 20, 21, 1, 9).

Estudios recientes hechos por diversos investigadores proponen que el FT es una sustancia compuesta por: aminoácidos, hipoxantina, poliaminas, timina, AMPc, GMPc, y ácido fólico. (17, 9, 18, 23).

Se han propuesto diversos modelos estructurales para el FT. Algunos de estos se basan en la susceptibilidad enzimática del FT y proponen cadenas de bases púricas y pirimidílicas unidas a cadenas de aminoácidos, enlazadas entre sí a grupos-fosfato. Otros investigadores dicen que son fracciones de ácido ribonucleico y ácido desoxirribonucleico unidas a estructuras peptídicas. (7).

Burger y col. (7), han propuesto un modelo estructural para el FT basado en la susceptibilidad enzimática; la estructura se describe en el esquema No. 2.

PROPIEDADES INMUNOLOGICAS DEL FT

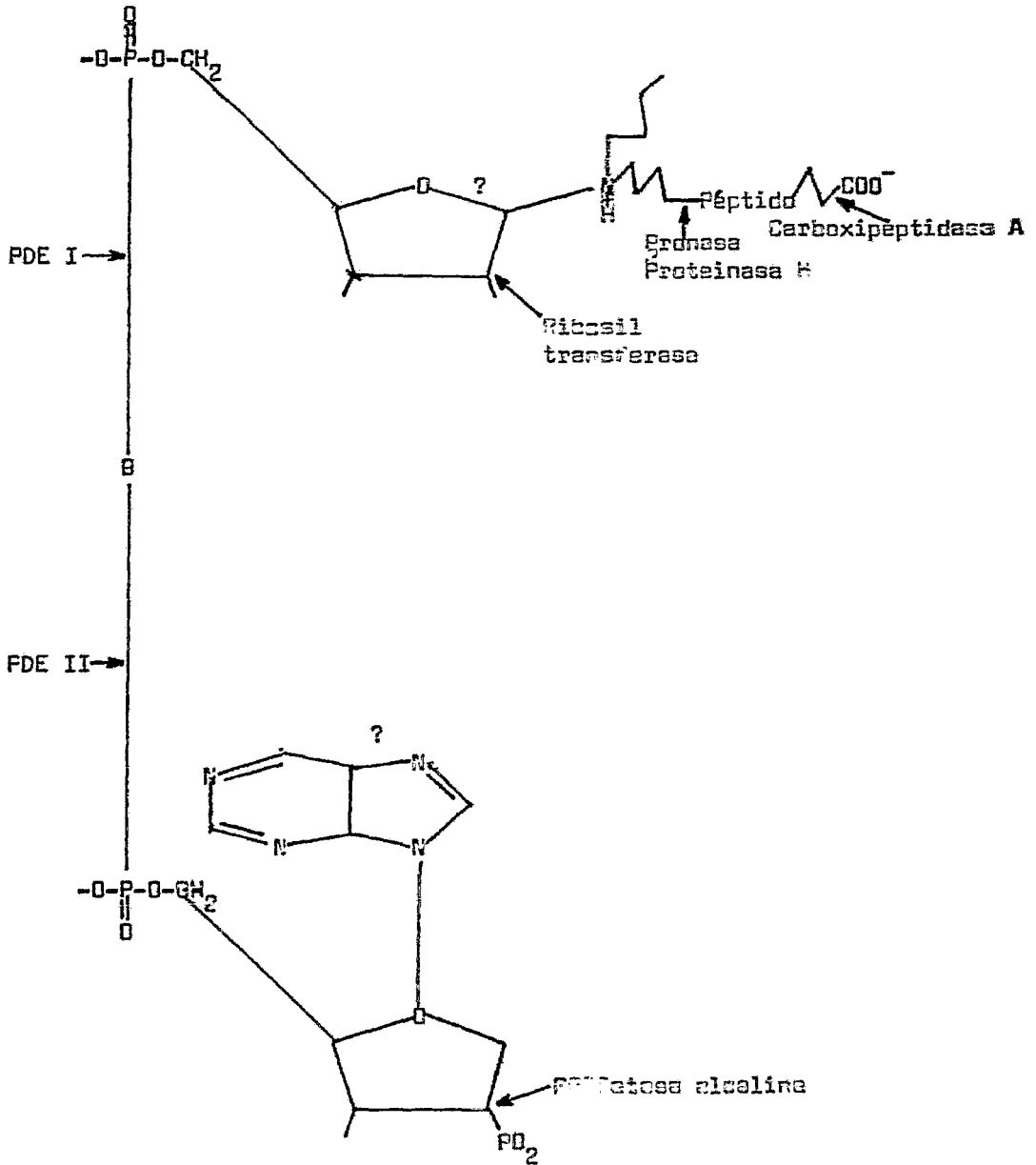
El factor de transferencia es considerado como una sustancia no inmunogénica, no es una inmunoglobulina, tiene especificidad inmunológica, estimula la proliferación y transformación clonal de los linfocitos, estimula "in vivo" e "in vitro" la producción de FIM (11, 20, 21, 1).

MECANISMO DE ACCION DEL FT

El mecanismo de acción es hasta la fecha desconocido, solo se han propuesto posibles mecanismos, uno de ellos sugiere que el FT actúa sobre alguna célula progenitora específica para algún antígeno o grupos de antígenos. Sin embargo, observaciones recientes sugieren que el FT puede tener efecto inespecífico; Bloom lo manifiesta así al proponer que posiblemente actúa como un adyuvante inmunológico. (5).

Esquema No. 2

Modelo estructural para el FT basado en la susceptibilidad enzimática.



Lawrence originalmente pensó que era una substancia - que inhibe la represión de los leucocitos. [21]. John Gallin y Charles Kirkpatrick [13], proponen que el FT incrementa la actividad quimiotáctica de los granulocitos y, en general, la mayoría de los autores sugieren que actúa inhibiendo la represión de linfocitos T y muchos creen que tiene actividad inmunorreguladora.

IV. ENFERMEDADES EN LAS QUE SE HA UTILIZADO EL FT

En diversos estudios realizados, el FT se ha utilizado como un recurso inmunoterapéutico en deficiencias inmunocelulares. Se ha empleado en inmunodeficiencias como ataxia telangiectasia; enfermedades neoplásicas como el melanoma maligno y carcinoma mamario; enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide y esclerosis múltiple, también se ha utilizado en diversas enfermedades infecciosas como: Hepatitis crónica, coccidioïdomicosis, candidiasis mucocutánea crónica progresiva en vías respiratorias, lepra lepromatosa, etc. (22, - 25, 34, 16, 32, 2).

En este estudio se utilizó el FT en el tratamiento de tuberculosis pulmonar avanzada.

TUBERCULOSIS PULMONAR AVANZADA

La tuberculosis es conocida como entidad clínica desde hace muchos siglos. Fue Laennec, quien en 1819 asoció esta enfermedad con las lesiones cavitarias de los pulmones y los nódulos grises encontrados en los diferentes órganos. Posteriormente, Villemin en 1868 demostró el origen contagioso de la enfermedad, reproduciéndola en conejos con material procedente de pulmones humanos tuberculosos.

Un gran avance en el estudio de esta enfermedad se debió a Roberto Koch, quien en 1882 descubrió el bacilo de la tuberculosis y creó sus postulados al aislar el bacilo en cultivo puro y reproducir la enfermedad en el cobayo al inocularle el bacilo. También relacionó la enfermedad con el desarrollo de la hipersensibilidad con reacción de tipo retardado -- por reinfección de cobayos con el bacilo tuberculoso.

Los efectos de la respuesta alérgica masiva a la tuberculina quedaron claramente evidenciados cuando Koch trató de utilizar la tuberculina con fines terapéuticos en pacientes tuberculosos tratando de estimular su respuesta inmune. (3, 4).

La tuberculosis es causada por Mycobacterium tuberculosis de la familia Mycobacteriaceae. El hombre es el único huésped natural de M. tuberculosis. El ganado vacuno es el huésped natural de M. tuberculosis var. bovis, y cuando es transmitido al hombre como huésped accidental es tan patógeno como M. tuberculosis. Las especies de micobacterias distintas de M. tuberculosis pueden producir ocasionalmente tuberculosis en el hombre (24).

El mecanismo de transmisión de M. tuberculosis es por medio de microgotas en forma de aerosoles, o el esputo de individuos con lesiones pulmonares. También se transmite por vía digestiva al ingerir leche proveniente de ganado tuberculoso (4), aunque en nuestro medio este mecanismo es poco frecuente.

CLASIFICACION CLINICA DE LA TUBERCULOSIS.

La "American Thoracic Society" ha clasificado clínicamente la tuberculosis en base a datos radiológicos en cuanto a la extensión de la lesión en:

a) MINIMA: Lesiones leves, sin cavitación demostrable, limitadas a una pequeña parte del pulmón o ambos.

La extensión de la lesión no debe ser mayor de un -- quinto del área total del pulmón.

b) MODERADAMENTE AVANZADA: Hay lesión en uno o ambos pulmones, pero la lesión no debe ser mayor de los siguientes límites:

Lesiones diseminadas con pequeña o moderada radiodensidad que puede ocupar todo el volumen o su equivalente en ambos pulmones.

Las lesiones densas y confluentes cuya extensión se limita a un tercio del volumen del pulmón.

c) MUY AVANZADA: Lesiones más extensas que en la categoría anterior.

CLASIFICACION BASADA EN LAS DIVERSAS ETAPAS DE ACTIVIDAD

La actividad se determina en base a datos radiológicos -- y antigüedad de la lesión.

a) ACTIVA: Presencia de M. Tuberculosis en esputo o -- biopsia, obstrucción bronquial, tuberculosis pulmonar segmentaria y tuberculosis miliar.

- b) **DETENIDA:** 1) *No cavitaria:* Baciloscopías negativas durante tres meses y disminución de la opacidad radiográfica.
- 2) *Cavitaria:* Baciloscopías negativas durante -- tres meses pero se admite presencia de cavidad.
- c) **INACTIVA:** 1) *No cavitaria:* Baciloscopías negativas durante seis meses y disminución de la opacidad radiográfica sin variación apreciable.
- 2) *Cavitaria:* Igual que en la no cavitaria pero puede presentar cavidades residuales con variación mínima en el tamaño de la lesión.

La baciloscopía debe ser negativa durante quince meses consecutivos antes de alcanzar el estado de detención cavitaria.

d) **ACTIVIDAD INTERMEDIA:** Se emplea para clasificar a enfermos de un estado a otro de actividad.

Turk, (8), ha descrito un esquema de la tuberculosis humana similar al de la lepra, definida en base a datos clínicos, bacteriológicos e inmunológicos como lo indica el cuadro No. 1.

El autor, relacionando el estado clínico de los enfermos con los datos anteriores, propuso una clasificación de la tuberculosis que se da enseguida:

RR/REACTIVA: Tuberculosis micronodular localizada.

RI/REACTIVA INTERMEDIA: Tuberculosis nodular o micronodular localizada con cavitación; linfadenopatía unilateral-

e bilateral; serosistis tuberculosa.

UI/NC REACTIVA INTERMEDIA: *Tuberculosis nodular o micronodular crónica difusa con cavitación y fibrosis; linfadenopatía complicada con formación de fístulas.*

UU/NO REACTIVA: *Tuberculosis miliar aguda.*

La definición de tuberculosis micronodular localizada está basada en el tamaño de las lesiones observadas por rayos X y por su localización en uno o los dos segmentos del pulmón. Las lesiones nodulares son grandes y localizadas.

Las lesiones de tuberculosis nodular o micronodular difusa crónica, están caracterizadas por una o más cavidades y una evolución prolongada de la enfermedad con relativa resistencia a la terapia (8).

ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

La prevalencia de esta enfermedad es mayor entre los grupos sociales económicamente débiles. La edad de mayor frecuencia en los países en vía de desarrollo es la adolescencia y la juventud, y en individuos mayores de 50 años en los países desarrollados, esto último probablemente a causa de la reactivación de lesiones primarias.

En nuestro país, la tuberculosis ha experimentado un descenso continuo en los últimos 50 años. Desde 80/100,000 habitantes en 1922 hasta 14.87/100,000 habitantes en 1974. Sin embargo sigue siendo un grave problema de salud pública, considerando que en 1974 la tuberculosis en todas sus formas ocu-

CUADRO 1

ESQUEMA DE LA TUBERCULOSIS HUMANA DESCRITO POR TURK

	REACTIVA (RR)	REACTIVA INTERMEDIA (RI)	NO REACTIVA INTERMEDIA (UI)	NO REACTIVA (UU)
I.D.R. AL PPD:				
REACCION TARDIA TIPICA (%)	100	30	5	-
REACCION TEMPRANA (%)	-	13	15	-
REACCION MIXTA (%)	-	57	80	-
INHIBICION DE LA MIGRACION (FIM)	+++	++-	+-	---
ANTICUERPOS HUMORALES (%)	5	70	98	100
MYCOBACTERIA:				
EN ESPUTO	---	---	+-	+++
EN TEJIDO	---	+-	+++	+++
RESPUESTA AL TRATAMIENTO (%)	100	90	33	0
ANTIFIMICO (%):				
CAMBIOS INMUNOLOGICOS EN GLANGLIO LINFATICO				
A) CENTROS GERMINALES Y CELULAS PLASMATICAS	+-	+-	+++	+-
B) AREA PARACORTICAL	+++	+-	+-	---

FUENTE: Turk, J.L. IMMUNOLOGY OF CHRONIC INFECTIONS. M.T. Press. 1979

pó el noveno lugar dentro de las diez primeras causas de defunción en el país y fué la segunda causa de mortalidad por enfermedades infecciosas y parasitarias.

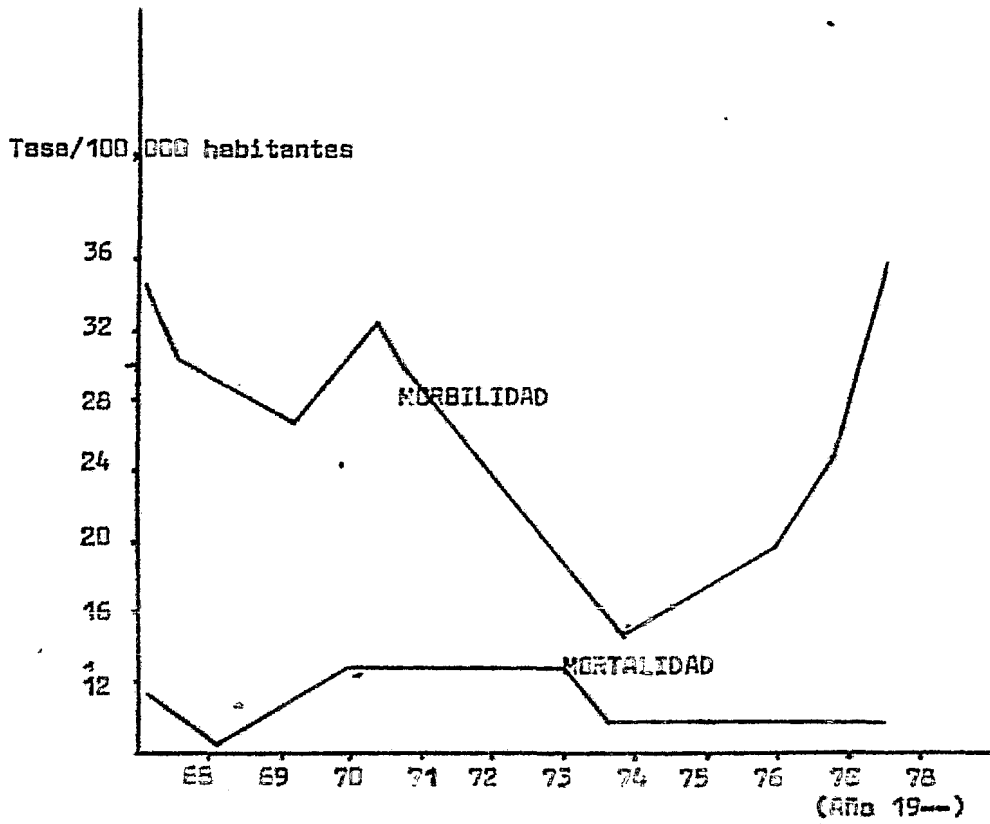
En 1972, México ocupó el tercer lugar en mortalidad por tuberculosis en todas sus formas entre nueve países latinoamericanos con una tasa de 17.3/100,000 y el noveno lugar en morbilidad con una tasa de 34.5/100,000 entre trece países latinoamericanos. [24].

La situación en América Latina es diez veces peor, -- comparada con países desarrollados como E.U. y Canadá. En 1973 se notificaron 171,275 casos con una tasa de 59/100,000 habitantes en 20 países de América Latina [30].

En 1978 la tuberculosis en todas sus formas ocupó el decimosexto lugar de incidencia entre las enfermedades transmisibles, con una tasa de 14.4/100,000 y los estados de mayor incidencia fueron Coahuila, Chiapas, Nayarit y Oaxaca [30].

En la gráfica No. 1 se presentan los datos de morbilidad y mortalidad por tuberculosis pulmonar en México de 1969 a 1978.

GRAFICA No. 1



Fuente: Dirección General de Estadística, Secretaría de Programación y Presupuesto.

En: Revista de Salud Pública de México. 1980. 5 p. 660

V. PRUEBAS DE LABORATORIO

Determinación de células T y B

La cuantificación de células T y B en sangre, es de gran interés en enfermedades linfoproliferativas, en inmunodeficiencias, enfermedades infecciosas y autoinmunes.

La inmunocitoadherencia es un método adecuado para -- cuantificar el número de células linfoides que tienen receptores específicos en su superficie. Estos receptores se demuestran por la formación de rosetas con eritrocitos de carnero.

Células formadoras de rosetas E

Los linfocitos humanos que se unen a eritrocitos de -- carnero para formar rosetas son células T, y su demostración es el método más ampliamente usado para la identificación de linfocitos T y se denomina roseta E (eritrocitaria).

Células formadoras de rosetas EAC

Este método es para la identificación de linfocitos E, y es un tanto semejante al de rosetas E.

Los linfocitos B contienen receptores de superficie para el complemento. Los eritrocitos de carnero a diferencia de los linfocitos T, no se fijan espontáneamente a los linfocitos B, pero sí son recubiertos con su anticuerpo (hemólisis).

na anticarnero) se unen al linfocito B en presencia del complemento. A los eritrocitos recubiertos con anticuerpo y complemento se les llama EAC (eritrocito-antígeno-complemento).

Factor inhibidor de la migración de los leucocitos (FIL)

Un excelente parámetro "in vitro" para comprobar el estado de hipersensibilidad es, sin lugar a dudas, el factor-inhibidor de la migración de los leucocitos (FIL).

Los tubos capilares que contienen a los leucocitos se colocan en pequeñas cámaras de cultivo, una conteniendo el antígeno y la otra no, que servirá como control de 100% de migración.

Cuando el antígeno específico se encuentra presente en el medio, los linfocitos sensibilizados producirán el FIL y se inhibirá la migración de los leucocitos. El grado de inhibición se determina midiendo el área de migración de los mismos en presencia del antígeno, tomando como 100% de migración el área de las cámaras controles sin antígeno.

Prueba intradérmica tipo Mantoux para la determinación de hipersensibilidad con reacción de tipo retardado "in vivo" (10, 14).

Las pruebas cutáneas se llevan a cabo como auxiliares para el diagnóstico, debido a que esta prueba solo localiza la hipersensibilidad cutánea a un antígeno o grupos de antígenos y cuando se investiga una enfermedad infecciosa, no nece-

sariamente se implica la infección activa con el agente con el cual está siendo probada, sino que se incluye una serie de antígenos. A la incapacidad para reaccionar ante este tipo de antígenos se le denomina anergia.

La prueba de Mantoux (inyección intradérmica de antígeno en la cara anterior del antebrazo) sigue siendo la más ampliamente usada. Si se forma la reacción, se evalúa a las 48 horas, tiempo en que se considera positiva una zona de induración cuyo diámetro sea de 0.5 cm. o más.

Determinación de las inmunoglobulinas IgA, IgG, IgM, y fracciones C₃ y C₄ del complemento (10, 14).

Generalmente se determinan por la técnica de inmunodifusión radial. Se emplea una placa de gel de agar purificado disuelto en un amortiguador adecuado, al que se incorpora el suero específico monovalente para la fracción que se desea cuantificar. En esta placa se practican horadaciones y en ellas se coloca un volumen medido con exactitud, tanto de un estándar en tres diluciones cuya concentración es conocida, como de los sueros problemas. Al difundirse el antígeno en el seno del agar que contiene el anticuerpo, se forma un halo de precipitación alrededor del pozo donde se colocó el antígeno. El diámetro de la zona de precipitación es directamente proporcional a la concentración del antígeno y por lo tanto los datos obtenidos en las reacciones de precipitación de los estándares sirven para trazar la curva de calibración de la

placa de donde se obtiene la concentración del antígeno presente en los sueros problemas.

Coloración de Wright

La propiedad más notable para lograr diferencias sutiles de tonos y tinción diferencial de los gránulos, depende de los colorantes eosina y azul de metileno.

Los grupos ácidos de los ácidos nucleicos y proteínas del núcleo, determinan su afinidad por el colorante básico, - es decir, por el azul de metileno y, por otro lado, la existencia de grupos básicos en la célula, permite su afinidad por el colorante ácido, la eosina.

Electroforesis de proteínas.

En este método se identifica a las proteínas por sus propiedades electroforéticas. Primero las proteínas son separadas en un campo eléctrico y subsecuentemente se tiñen con una solución de colorante rojo de Ponceau S.

Determinación de proteínas totales (método de Biuret).

Todas las proteínas contienen gran número de enlaces peptídicos. Si se trata una solución de proteínas con iones Cu^{++} , en un medio moderadamente alcalino se forma un complejo quelato coloreado de composición desconocida, entre el ion Cu^{++} y los grupos carbonilo ($-\text{C}=\text{O}$) y grupos amida ($=\text{N}-\text{H}$) de los enlaces peptídicos.

La reacción ocurre entre el ión cúprico y todo compuesto que contenga por lo menos dos grupos $\text{NH}_2\text{CO}-$, $\text{NH}_2\text{CS}-$ y grupos similares.

En la reacción de Biuret, cuanto mayor es la cantidad de proteína, mayor es el número de enlaces peptídicos y consecuentemente mayor la intensidad de la coloración.

VI MATERIAL Y METODOS

Nueve enfermos con tuberculosis pulmonar avanzada y - resistentes al tratamiento con antifímicos, internados en el - pabellón No. 5 del Instituto Nacional de Enfermedades Pulmonares, S.S.A., se sometieron a tratamiento con factor de transfe rencia (FT).

Los criterios utilizados para someterlos al tratamiento con FT fueron:

Su situación con respecto a la clasificación de Turk- era entre los no reactivos (UU) y no reactivo intermedio (UI); de acuerdo al estado clínico, bacteriológico, radiológico e in munológico y a la resistencia que presentaban estos pacientes- al tratamiento con antifímicos usuales.

Los enfermos se clasificaron de la siguiente forma:

NOMBRE	DIAGNOSTICO	CLASIFICACION INMUNOLOGICA
T.G.M.	Tuberculosis pulmonar linfohematogena	No reactiva (UU)
R.C.Z.	"	"
M.J.F.	Tuberculosis pulmonar de reinfección, mixta, bilateral, activa, y- may avanzada	

I.C.R.	"	"
M.F.H.	"	"
O.R.E.	"	"
F.G.T.	"	"
M.M.R.	"	"
J.J.S.	"	"

En cinco de los enfermos el tratamiento consistió en la aplicación de una sola unidad de FT. Los otros cuatro enfermos recibieron entre siete y ocho unidades de FT, aplicando -- una semanalmente durante el primer mes del tratamiento, y las demás unidades se aplicaron con intervalos de 15 días.

Se realizó un perfil inmunológico antes del tratamiento y otros a intervalos de un mes y al final del tratamiento. En todos los casos se continuó el tratamiento antifímico establecido a su ingreso, sin ninguna variación.

Para evitar "sesgos" de evaluación clínica y terapéutica, los neumólogos encargados del pabellón fueron quienes realizaron esta evaluación, sin que fuera informado el resultado sino hasta el final del tratamiento.

A) DETERMINACION DE LINFOCITOS T Y B (33).

a) Preparación de eritrocitos de carnero (E).

La sangre se toma por punción en la vena yugular de un carnero, con una jeringa que contenga un volumen de solución de Alsever igual al de la sangre que se va a extraer. La

toma de la sangre debe hacerse en condiciones asépticas.

Los glóbulos rojos de carnero (G.R.C.) con solución de Alsever, los cuales pueden ser utilizados hasta por una semana, se lavan tres veces con solución salina amortiguada con fosfatos (SSA), centrifugando a 800 g. por ocho minutos.

Se elimina el sobrenadante y se hace una suspensión al 1% con SSA.

b) Preparación de hemolisina anticarnero.

Se prepara una suspensión al 10% de G.R.C. obtenidos en las mismas condiciones que en el caso anterior, pero se lavan hasta 10 veces con SSA. Esta suspensión se va a utilizar en la inmunización de los conejos.

La suspensión se conserva en el refrigerador y solo debe usarse durante 4 días.

La inmunización de los conejos se lleva a cabo por vía endovenosa, aplicando una serie de 10 inyecciones; las cuatro primeras se aplican diariamente y las otras seis cada tercer día. La dosis es 1.0 ml. por kilogramo de peso.

Después de una semana de la última aplicación se hace una sangría de prueba para titular la cantidad de hemolisina presente, por lisis de los eritrocitos de carnero que originaron su formación, en presencia del complemento. Si el título es de por lo menos 5000 unidades hemolíticas por ml, se hace una punción cardíaca del conejo para obtener entre 50 y 60 ml de sangre.

Se deja coagular la sangre y se centrifuga a 800 g -

por 10 min. Posteriormente se separa el suero con una pipeta - y se adiciona un volumen igual de glicerina como conservador.

c) Preparación de eritrocitos-Ac-complemento (EAC).

Se prepara 5 ml. de una suspensión de G.R.C. al 5% en hemolisina anticarnero (5000 unidades hemolíticas por ml.) Se incubaba a 37°C durante 30 minutos.

Se lava tres veces con SSA, centrifugando a 800 g durante 10 minutos.

Se resuspenden en 5 ml. de SSA y se agregan 5 ml. de suero humano fresco diluido 1:200 con SSA (fuente de complemento). Se agita y se incubaba a 37°C durante 30 minutos.

Se lava tres veces con SSA, centrifugando a 800 g durante 8 minutos.

Se ajusta al 1% con SSA.

d) Separación de linfocitos.

A 5 ml. de sangre venosa tomada con 20 u/ml de heparina (Labs Abbott) se le adicionan 5 ml de SSA, se estratifica con 2.5 ml de Ficoll-Hypaque (10 partes de Hypaque al 34% y 24 partes de Ficoll al 9%) en tubos de 13 por 100 mm, se centrifuga a 400 g durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se extrae la fracción rica en linfocitos de la interfase con pipeta Pasteur, se colocan en un tubo y se lavan tres veces con SSA, centrifugando a 400 g durante 8 minutos. Se resuspende en 1 ml aproximadamente y se ajusta a una concentración de 4×10^6 ce lulas por ml.

e) Cuenta de rosetas E.

Se toma 0.25 ml de la preparación de linfocitos (inciso d) y se mezcla con 0.25 ml de E (inciso a), incubando a 37°C durante 15 min. para después centrifugar a 40 g por 2 minutos e incubar a 4°C durante 18 horas.

Se elimina aproximadamente dos terceras partes del sobrenadante y se resuspende suavemente. Se coloca una gota entre porta y cubreobjeto y se sella con parafina. Se cuenta con el objetivo de inmersión.

Se consideran linfocitos T a los que se encuentran rodeados de por lo menos tres G.R.C., se cuentan tanto linfocitos solos como los que se encuentran formando rosetas hasta llegar a 100 y se reporta el número encontrado en por ciento.

f) Cuenta de rosetas EAC.

Se toman 0.25 ml de EAC (inciso c); posteriormente se centrifuga a 40 g durante 2 minutos y se deja a temperatura ambiente durante 15 minutos.

Se elimina aproximadamente dos terceras partes de sobrenadante y se resuspende suavemente.

Se coloca una gota entre porta y cubreobjeto y se sella con parafina.

Se cuenta de igual manera que para linfocitos T.

B) FACTOR INHIBIDOR DE LA MIGRACION DE LOS LEUCOCITOS (FIL)

Se toma una muestra de sangre venosa heparinizada

(20 u/ml) y se deja sedimentar en la jeringa en posición ligeramente inclinada a 37°C durante una hora.

Se dobla la aguja y se presiona el émbolo de la jeringa para pasar el plasma a tubos de 13 por 100 con rosca, estériles.

El plasma se centrifuga para obtener los leucocitos a 400 g por 10 minutos. Se agregan 8 ml de solución de Alsever y se centrifuga a 90 g por 10 minutos para eliminar las plaquetas y el fibrinógeno.

Se vuelve a lavar con solución de Alsever centrifugado a 400 g por 10 minutos.

Se decanta y al sedimento se le agrega 1 ml de medio de cultivo (MEM de Eagle); con esta suspensión se llenan tubos capilares hasta las 3/4 partes y se sellan al fuego por un extremo. Se colocan los capilares dentro de tubos puestos en baño de hielo. (se debe trabajar en condiciones de esterilidad).

Se centrifugan los capilares a 400 g por 3 minutos -- dentro de los tubos de ensayo.

Los capilares se cortan en la interfase de células y sobrenadante.

La porción con el paquete celular se coloca en la cámara de FIM tipo Bloom, fijándolo sobre una gota de silicón. - En cada cámara se coloca un par de capilares en posición "V" - y se cubre la cámara con un cubreobjetos, sellándola con parafina.

Las cámaras se llenan con el medio de cultivo por un-

extremo cuidando que no queden burbujas. Se agrega 0.1 ml - del antígeno y se sellan los orificios con parafina; a una de las cámaras no se le adiciona antígeno que servirá como control de 100% de migración. Los antígenos que se usaron fueron, PPD (derivado proteico purificado de M. tuberculosis), 100-200 U.I. por ml., producto elaborado por el Instituto Nacional de Higiene, S.S.A., candidina 1:20, elaborada por el Departamento de Inmunología de la E.N.C.B., varidasa (SK-SD) 25 U. de SK y 6.5 U. de SD por dosis de 0.1 ml de Laboratorios Lederle.

Las cámaras se colocan en cajas petri, en forma horizontal y se incuban a 37°C durante 48 horas.

A las 48 horas las cámaras se colocan en un amplificador fotográfico y se dibuja el contorno de la migración por el antígeno tomando como 100% de migración la de los capilares -- sin antígeno.

C) PRUEBAS INTRADERMICAS TIPO MANTOUX PARA LA DETERMINACION DE LA HIPERSENSIBILIDAD CON REACCION DE TIPO RETARDADO "IN-VIVO" (10, 14).

Se aseptica la piel de la cara interna del antebrazo con alcohol al 70%. Se inyecta 0.1 ml por vía intradérmica de cada una de las siguientes soluciones de antígenos: tricotifitina 1:20, (2 UT por dosis), candidina 1:20 y varidasa (SK-SD) - 25 U de SK y 6.5 U de SD por dosis de 0.1 ml.

A las 48 horas se observa si hay induración en el sitio de aplicación del antígeno y si es el caso se mide el diá-

metro en milímetros.

D) DETERMINACION DE INMUNOGLOBULINAS IgA, IgG, IgM, -
FRACCIONES C₃ y C₄ DEL COMPLEMENTO.

Se utilizó la técnica de inmunodifusión radial empleando los equipos Partigen del Instituto Behring.

Se separa el suero de una muestra de 5 ml de sangre venosa, se coloca en un tubo y se guarda a -70°C hasta la realización de las pruebas.

Estas placas comerciales, contienen el suero específico monovalente mezclado con el agar. Cada placa tiene doce perforaciones enumeradas.

Para la determinación de cada proteína, las tres primeras perforaciones de la placa se llenan con 5 microlitros de tres soluciones de concentraciones conocidas de la inmunoglobulina o de la fracción del complemento correspondiente.

Para la determinación de IgG en el problema, el suero se diluye 1:10 con solución salina al 0.85%, la IgA, IgM, y las fracciones C₃ y C₄ del complemento se determinan sin diluir.

Se colocan 5 microlitros de los sueros problemas con el aplicador en los pozos correspondientes de cada una de las cajas.

Las cajas se dejan a temperatura ambiente; 80 horas para la IgM y 50 horas para IgG, IgA, y las fracciones C₃ y C₄ del complemento.

Se hace una gráfica en papel milimétrico poniendo en el eje de las abscisas la concentración de los estándares y en el eje de las ordenadas el diámetro en mm^2 del halo de precipitación. Se interpola en la gráfica el diámetro encontrado en los sueros problemas y se determina la concentración correspondiente de cada uno.

E) CITOLOGIA HEMATICA

a) Coloración de Wright para la fórmula leucocitaria diferencial.

Se coloca una gota de sangre en uno de los extremos de un portaobjetos y con otro portaobjeto colocado sobre la gota de sangre formando un ángulo de aproximadamente 45° con el primero, se corre a lo largo de éste logrando una extensión homogénea y delgada.

La extensión se cubre con el colorante de Wright de 3 a 5 minutos.

Se cubre con amortiguador de fosfatos de pH 7.4 de 5 a 7 minutos.

Se lava con agua de la llave y se seca al aire.

Se cuentan 100 células y se reportan en porciento el número encontrado de cada una de las siguientes células: linfocitos, monocitos, neutrófilos, basófilos, y eosinófilos.

b) Cuenta de leucocitos.

Se llena la pipeta de toma para glóbulos blancos con sangre hasta la marca de 0.5 y se afora con solución de Turk-

hasta la marca de 11.

Se agita la pipeta por 3 minutos y se desechan las primeras 5 gotas.

Se carga la cámara de Neubauer para leer con el objetivo 10X.

Se cuentan los leucocitos presentes en los cuatro cuadros grandes de los extremos y el resultado se multiplica por 50 para obtener el número de leucocitos por mm^3 de sangre.

F) ELECTROFORESIS DE PROTEINAS.

Se colocan 50 ml de amortiguador en cada uno de los compartimientos de la cámara de electroforesis. Se colocan dos tiras de papel filtro impregnadas en el amortiguador sobre los bordes de los compartimientos, asegurándose que éstos hagan contacto con el amortiguador. Se tapa la cámara.

Se sumerge lentamente la placa de acetato de celulosa (titan III0 en el amortiguador, y se deja equilibrar 15 minutos antes de aplicar las muestras. Se debe marcar el lado derecho de la placa (Mylar) antes de sumergirse en el amortiguador.

Con un microaplicador se colocan 3 microlitros de suero sobre la placa soporte.

Se coloca la tira de acetato de celulosa sobre la base alineada.

Se toma la muestra de suero de la placa soporte con el microaplicador múltiple (supra 2-12) y se presiona el fondo del aplicador durante 10 segundos sobre la tira de acetato.

de celulosa.

Se coloca la tira de acetato de celulosa en la cámara de electroforesis con el lado de donde se aplicó la muestra - hacia abajo. Se cierra la cámara, se conecta a una fuente de poder y se ajusta la corriente a 180 volts sobre em y se dejan transcurrir 15 minutos.

Se saca la tira de acetato de celulosa y se impregna durante 6 minutos en una solución de colorante de rojo de Pen ceau.

Se hacen tres lavados sucesivos, pasando la tira de acetato de celulosa por una solución de ácido acético hasta - eliminar el exceso de colorante.

Se deshidrata la tira de acetato de celulosa impregnada por 2 minutos en metanol, el proceso puede repetirse dos veces más.

Se pasa la tira a una solución conteniendo 25 partes de ácido acético y 71 partes de metanol además de cuatro partes de agente clarificante (cat 5005 Helena Laboratorios) para transparentar la tira de acetato.

Se seca la tira en un horno a 50°C.

Se coloca la tira en el densitómetro usando filtro de 525 nm.

G) DETERMINACION DE PROTEINAS TOTALES (método de Bia- ret).

Se colocan 50 microlitros del estándar en un tubo de-

ensayo (6.0 g de albúmina en 100 ml de agua destilada).

En otro tubo se colocan 50 microlitros del suero problema.

Se agrega a cada tubo 2 ml de solución salina isotónica.

Se adiciona 2 ml de reactivo de Biuret, se homogenizan con vortex y se dejan incubar a 27°C durante 30 minutos.

Se lee en un fotocolorímetro a 520 m μ usando como blanco la mezcla de 2 ml de solución salina isotónica y dos ml del reactivo de Biuret.

La concentración se obtiene multiplicando la extinción óptica del problema por 6.0 g/100 ml y se divide entre la extinción óptica del estándar.

H) PREPARACION DE FACTOR DE TRANSFERENCIA.

Se sigue el método de Lawrence [21] con algunas modificaciones del Departamento de Inmunología de la E.N.C.B.

Se obtienen 500 ml de sangre periférica de donadores PPD positivos, en bolsas para recolección de sangre con 70 ml de anticoagulante (FENWAL BOLSANG CPD).

Se separa el plasma rico en leucocitos centrifugando las bolsas con sangre colocadas dentro de las aristas de la centrífuga, a 1500 rpm durante 30 minutos (centrífuga Internacional PR 2). Posteriormente se sacan las bolsas de las armazas, procurando no romper el paquete globular que se encuentra en la parte inferior de la bolsa.

Se corta la narquera de la bolsa, trabajando en seco,

ciones de esterilidad, y se hace presión sobre la bolsa colocada verticalmente entre dos planchas en posición "V" para extraer el sobrenadante, el cual se recoge en frascos de centrifuga previamente esterilizados.

El sobrenadante (plasma rico en leucocitos) se centrifuga a 8000 g durante 30 minutos a 5°C (centrifuga Sorvall - RC 28).

El sedimento (leucocitos) obtenido a 8000 rpm se pasa a un matraz Erlenmeyer de 25 ml y se agrega 10 ml de SSA.

Se procede a lisar los leucocitos mediante congelación y descongelación. Se congela en baño de hielo seco-alcohol etílico por 10 minutos e inmediatamente se descongela en baño de agua a 37°C por 10 minutos, esta operación se realiza 10 veces.

El paquete celular lisado se dializa contra 100 ml de agua libre de pirógenos en una probeta estéril de 100 ml durante 18 horas a 4°C.

El dializado se pasa a tres frascos para ser liofilizado (liofilizadora the Virtis Co. Inc. Candiener N.Y.).

El liofilizado se almacena a -70°C hasta su uso.

Se rehidrata con 6 ml de agua libre de pirógenos.

Los reactivos que se prepararon para el presente trabajo fueron:

Solución de Alsever

Glucosa	20.50 g
Citrato de Sodio anhidro	5.00 g
Acido cítrico monohidratado	0.55 g
Cloruro de sodio	4.20 g
Agua destilada	1 litro

pH 6.1

Esterilizar a 121°C y 15 libras de presión por 15 min.

Medio mínimo esencial de Eagle

Se disuelven los paquetes de 9.5 g en 100 ml de agua destilada, se esterilizan por membranas millipore de 0.45 micras (Millipore Corporation), recibiendo la solución en frascos estériles. Por otra parte se preparan frascos con 90 ml de agua destilada y se esterilizan a 121°C y 15 libras de presión durante 15 min. para agregarles 10 ml del medio de cultivo y estreptomicina y penicilina, a tener como concentración final 100 microgramos por ml y 100 UI/ml respectivamente. Se ajusta el pH a 7.2 con solución al 7.5% de bicarbonato de sodio estéril.

Colorante de Wright

Eosina-azul de metileno (según Wright)	0.24 g
Glicerina	3.0 ml
Metanol	97.0 ml

Se disuelve el colorante en un poco de metanol y se agrega a la glicerina y lo que resta del metanol. Se agita durante una hora, después se filtra y se deja madurar.

Colorante de Ponceau S

Se prepara agregando al contenido de una cápsula de colorante de Ponceau S a 5 ml de ácido tricloroacético al 5% en agua.

Reactivo de Biuret

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3.00 g
$\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	12.00 g
NaOH	60.00 g
Agua destilada c.b.p.	2 litros

Solución salina amortiguada pH 7.4 (SSA)Sol. A

NaCl	32.00 g
KCl	1.60 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.80 g
Na_2HPO_4	0.18 g
KH_2PO_4	0.24 g
Disolver en 2 litros de agua destilada.	

Sol. B

CaCl_2	0.44 g
Disolver en 2 litros de agua destilada	

Sol. C

Glucosa	4.00 g
Disolver en 40 ml de agua destilada y mezclar con A+B	

Sol. D

Rojo de fenol	0.008 g
Disolver en 40 ml de agua destilada	

Sol. E

TRIS 76.40 g.

Disolver en 3200 ml de agua destilada y ajustar el pH a 7.4 -
con ácido clorhídrico conc. y se afora a 4 litros.

Solución de trabajo: Mezclar soluciones A+B+C+D+E

Líquido de Turk

Acido acético glacial 2.00 ml

Solución acuosa de violeta
de genciana 1.00 ml

Agua destilada 100.00 ml

Se filtra.

VII RESULTADOS

En la tabla No. 1 observamos la evolución de los parámetros inmunológicos de cada uno de los pacientes tratados con 7 y 8 unidades de FT, en la tabla No. 2 la evolución inmunológica de los pacientes tratados con una sola unidad de FT y en la tabla No. 3 los resultados de las inmunoglobulinas IgA, IgG e IgM, así como las fracciones C_3 y C_4 del complemento, las cuales no variaron después del tratamiento y se conservaron dentro de los límites normales.

La electroforesis de proteínas mostró una considerable elevación de las fracciones albúmina y alfa I después del tratamiento, pero conservándose dentro de los límites normales. Las fracciones alfa II, beta y gamma no mostraron una variación significativa después del tratamiento; sin embargo, la fracción gamma se encontró por arriba de los valores normales antes y después del tratamiento. (tabla No. 4).

El número de Linfocitos T aumentó significativamente después del tratamiento ($p < 0.001$)* y se observó también una elevación significativa en los linfocitos B ($p < 0.001$)+ (tabla No. 5 y cuadro No. 3).

El factor inhibidor de la migración (FIM) vino hacia la positividad en el 77% de los pacientes para el caso del PPD. Para Candidina el porcentaje de los pacientes que daban la --

prueba positiva se conservó igual después del tratamiento y - para Varidasa el porcentaje de positivos disminuyó del 66% al 33% (Tabla No. 6 y cuadro No. 3).

En las pruebas de hipersensibilidad con reacción retardada "in vivo" evaluada por intrademo-reacciones, se observó que del 11% de los pacientes que daban positiva la prueba - al PPD, al final del tratamiento se incrementó al 44% (tabla - No. 1 y 2, cuadros 2 y 3).

En el cuadro No. 4 observamos que la evolución clínica y bacteriológica fue favorable en 8 de los pacientes, el -- otro falleció por complicaciones respiratorias. La evolución - radiológica fue en 5 de los pacientes y 4 de ellos permanecieron sin variación.

Los cuadros 4, 5, 6 y 7 nos muestran detalladamente - la buena evolución clínica y bacteriológica de los pacientes - tratados con factor de transferencia, así como el diagnóstico, tratamiento antifímico aplicado y tiempo de evolución de la enfermedad, que en la mayoría de los casos era demasiado larga.

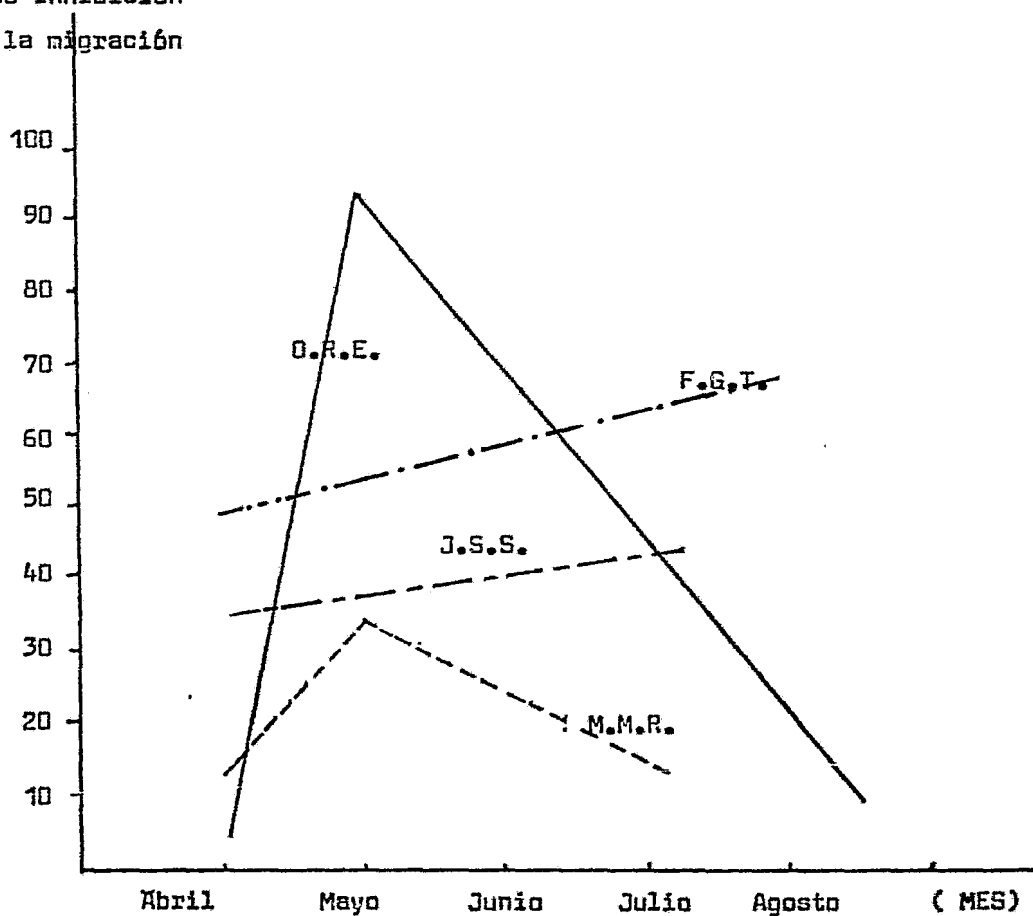
+ Pruebas de significado estadístico:

TABLA 1

NOMBRE: FECHA	LINF.		MIF			LINFOS	LEUCOS	DIFERENCIAL					INTRADERMOREACCION			
	T	B	PPD	CAN	VAR	TOTALES	TOTALES	B	E	N	L	M	TRI	PPD	CAN	VAR
D.R.E.																
26/IV/81	26	18	0	9	44	1200	11,000	0	0	76	16	4	-	-	-	-
21/V/81	?	34	93	ND	ND	2100	5,600	0	2	58	38	2	+	+	+	+
22/VII/81	53	29	46	48	ND	2800	9,000	1	8	56	31	4	+	+	+	+
22/VIII/81	40	36	22	55	0	2720	8,000	0	2	62	34	2	+	+	+	+
M.K.R.																
20/IV/81	43	25	12	40	48	1400	4,700	1	4	46	30	3	-	-	-	-
21/V/81	32	30	32	ND	ND	1700	4,850	0	0	61	35	4	+	-	-	-
22/VII/81	40	32	16	9	0	3300	4,800	0	6	22	70	2	+	+	+	+
22/VIII/81	59	50	ND	ND	ND	1750	5,000	0	3	58	35	4	+	+	+	+
F.S.T.																
26/IV/81	33	23	49	29	17	2800	11,000	0	2	77	18	3	-	-	-	-
22/VIII/81	48	36	69	46	0	891	3,300	0	4	65	27	4	+	+	+	+
J.S.R.																
20/IV/81	39	25	35	49	70	870	3,000	0	2	68	29	1	-	-	-	-
20/VII/81	60	32	44	53	21	1938	5,100	1	4	49	38	8	+	+	+	+
26/VIII/81	60	32	ND	ND	ND	5100	8,500	0	1	61	36	2	+	+	+	+

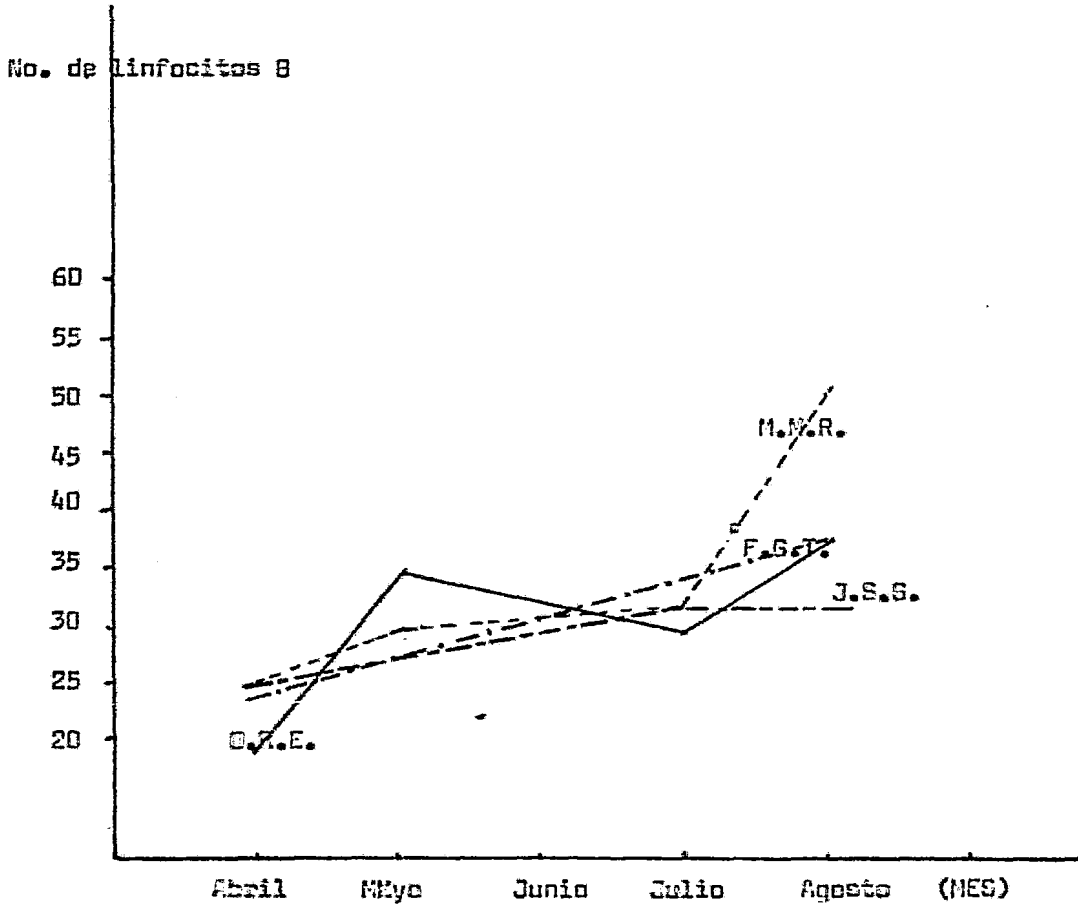
GRAFICA No. 2

% de inhibición
de la migración



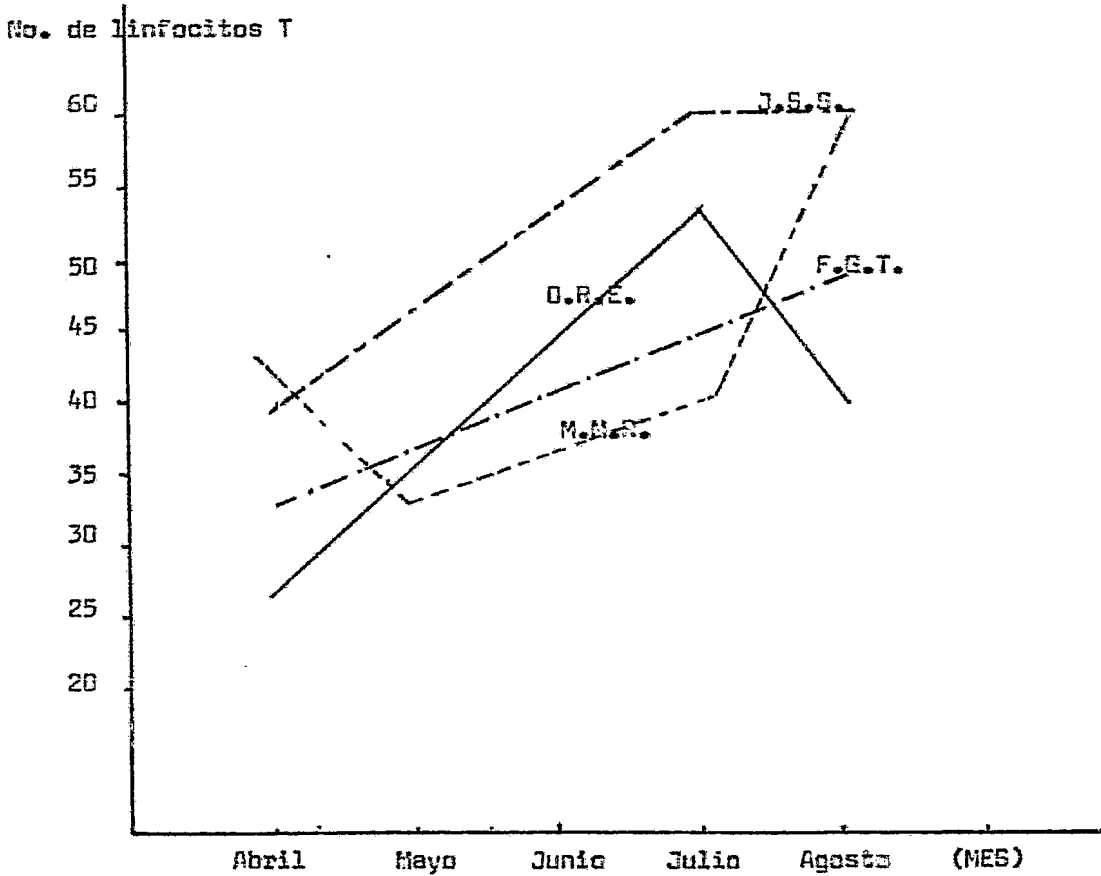
Evolución de los pacientes en la inhibición de la migración de los macrófagos para PPD, después de la aplicación del factor de transferencia

GRAFICA No. 3



Evolución de los pacientes en el número de linfocitos B, después de la aplicación del factor de transferencia.

GRAFICA No. 4



Evolución de los pacientes en el número de linfocitos T, después de la aplicación del factor de transferencia.

TABLA 2
EVOLUCION INMUNOLOGICA EN PACIENTES TRATADOS CON UNA SOLA UNIDAD DE F.T.

NOMBRE	LINFOS		MIF			LINFOS	LEUCOS	DIFERENCIAL					INTRADERMOREACCION			
	T	B	PPD	CAN	VAR	TOTALES	TOTALES	B	E	N	L	M	TRI	PPD	CAN	VAR
I.C.R.	15	25	-	+	+	2600	7600	0	9	47	34	5	+	-	+	-
R.C.Z.	21	44	+++	+++	+	1600	4200	3	9	44	38	6	-	-	-	-
M.J.H.	19	18	-	-	-	2400	5500	4	8	37	43	8	-	-	-	-
T.G.M.	15	26	-	+	-	N.D.	N.D.	N.D.					-	-	-	-
M.F.H.	10	30	++	++	++	3800	8800	4	7	35	44	10	-	-	-	-
RESULTADOS 15 DIAS DESPUES DE LA APLICACION DE UNA UNIDAD DE F.T.																
I.C.R.	32	29	+	++	-	-	8500	N.D.					-	-	-	-
R.C.Z.	55	55	-	-	-	2900	5200	0	5	38	56	1	-	-	-	-
M.J.H.	58	25	-	+	-	3000	5400	1	7	33	57	2	-	-	-	-
T.G.M.	40	37	+	+++	+++	3700	6300	1	0	41	58	0	-	-	-	-
M.F.H.	44	44	++	+	+	2000	3300	1	4	31	61	0	-	-	-	-

TABLA 3

DETERMINACION DE INMUNOGLOBULINAS IgA, IgG, IgM, FACTORES C₃ Y C₄ DEL COMPLEMENTO ANTES Y DESPUES DE LA APLICACION DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA

NOMBRE	ANTES DEL F.T.					DESPUES DEL F.T.				
	IgA	IgG	IgM	C ₃	C ₄	IgA	IgG	IgM	C ₃	C ₄
I.C.R.	230	770	156	121	32	180	760	256	90	31
R.C.Z.	390	860	350	90	16	358	1080	370	63	19
M.J.H.	320	880	320	90	32	260	960	476	121	32
T.G.M.	264	890	256	90	25	320	1400	236	121	32
M.F.H.	358	630	196	75	19	358	1230	196	63	20
D.R.E.	360	1640	196	115	29	280	1100	204	110	32
M.M.R.	160	960	196	105	15	280	1900	500	46	12
F.G.T.	280	1320	196	105	29	410	2500	270	80	32
J.S.S.	280	930	110	75	19	395	2300	200	127	32
PROMEDIO	293.5	987	219	91	25	315	1470	300	91	25
VALORES NORMALES	50- 350	700- 1900	50- 250	70- 115	21- 50					

NOTA: Todos los valores de referencia fueron proporcionados por el Departamento de Inmunología de la E.N.C.B. del I.P.N., determinadas en una población sana del mismo I.P.N.

TABLA 4

ELECTROFORESIS DE PROTEINAS ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO CON F.T.

NOMBRE	ANTES DE F.T.						DESPUES DEL F.T.					
	ALB	ALFA I	ALFA II	BETA	GAMA	P.T.	ALB	ALFA I	ALFA II	BETA	GAMA	P.T.
I.G.R.	3.60	0.30	1.20	0.24	1.96	8.0	4.50	0.30	0.43	0.61	1.30	7.5
R.G.Z.	3.00	0.25	0.54	0.24	2.32	7.0	3.45	0.16	0.48	0.66	2.20	7.0
M.J.H.	3.24	0.23	0.66	0.65	1.44	6.3	3.66	1.00	0.52	0.49	1.72	7.4
T.G.N.	3.29	0.28	1.15	0.75	1.70	7.2	3.38	0.30	1.25	0.90	2.17	8.0
M.F.H.	3.03	0.34	1.01	0.55	2.67	7.6	3.44	0.73	0.66	0.43	2.35	7.6
O.R.C.	2.80	0.13	0.98	0.55	2.10	7.0	3.18	0.35	0.84	0.90	1.62	6.9
M.H.R.	3.09	0.28	0.43	0.64	1.46	5.9	3.40	0.41	0.85	0.89	1.84	5.4
F.S.T.	2.39	0.36	0.07	0.92	2.06	6.6	2.83	0.31	0.85	0.86	1.66	6.5
J.S.S.	3.70	0.15	0.30	0.60	1.26	6.0						
PROMEDIO	3.13%	0.27%	0.79%	0.75%	1.88%	6.9	3.48%	0.45%	0.73%	0.71%	1.86%	7.0
NORMALES	3.0-	0.15-	0.45-	0.65-	0.90-	6.5-						
	4.5%	0.50%	0.90%	1.15%	1.30%	7.8 g/100 ml.						

TABLA 5
 CONVERSION DEL NUMERO DE LINFOCITOS T Y B CON LA APLICACION
 DE UNA A OCHO UNIDADES DE FACTOR DE TRANSFERENCIA.

NOMBRE	ANTES DEL F.T.		DESPUES DEL F.T. (15 días)	
	LINF. T	LINF. B	LINF. T	LINF. B
I.C.R.	15	25	32	29
R.C.Z.	21	44	55	55
M.J.H.	19	18	58	25
T.G.M.	15	26	40	37
M.F.H.	10	30	44	44
D.R.E.	26	13	40	36
M.M.R.	43	25	59	50
F.G.T.	33	23	48	36
J.S.S.	39	25	60	32
PRPMEDIO	24.5	25.5	48.4	34.6
VALORES NORMALES	41 ± 9	32 ± 5	0.001	$P = 0.001$

NOTA: Todos los valores de referencia fueron proporcionados por el Departamento de Inmunología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, determinadas en una población sana del mismo I.P.N.

TABLA 6
 CONVERSION DE LA PRODUCCION DE MIF CON LA APLICACION DE UNA
 A OCHO UNIDADES DE FACTOR DE TRANSFERENCIA

NOMBRE	ANTES DEL F.T.			DESPUES DEL F.T. (15 días)		
	PPD	CAN	VAR	PPD	CAN	VAR
I.C.R.	-	+	+	+	++	-
R.C.Z.	+++	+++	+	-	-	-
M.J.H.	-	-	-	-	+	-
T.G.M.	-	+	-	+	+++	+++
M.F.H.	++	++	++	++	+	+
D.R.E.	-	-	++	+	++	-
M.M.R.	-	++	++	-	-	-
F.G.T.	++	+	-	+++	++	+
J.S.S.	++	++	+++	++	++	+

CONVERSION:	ANTES	DESPUES
PPD	4/9 (44%)	7/9 (77%)
CAN	7/9 (77%)	7/9 (77%)
VAR	6/9 (66%)	3/9 (33%)

0-19 (+)

20-39 (++)

40-59 (+++)

60-79 (+++)

80-100 (++++)

CUADRO 2

CONVERSION DE LA HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA; EVALUADA POR INTRADERMO-
REACCION UTILIZANDO LOS ANTIGENOS: TRIOFITINA, PPD, CANDIDINA, Y VARI-
DASA, EN PACIENTES TRATADOS CON SIETE Y OCHO UNIDADES DE F.T.

		ANTES DEL F.T.	DESPUES DEL F.T.
P	TRI	1/9 (11%)	4/9 (44%)
	PPD	0/9 (0%)	4/9 (44%)
	CAN	0/9 (0%)	4/9 (44%)
	VAR	0/9 (0%)	4/9 (44%)

CUADRO 3

CONVERSION INMUNOLOGICA EN 9 PACIENTES CON DIVERSOS TIPOS DE TUBERCULO-
SIS PULMONAR AVANZADA; ACTIVA; MULTITRATADA, NO REACTIVA O INTERMEDIA
Y NO REACTIVA DESPUES DEL TRATAMIENTO CON F.T. (15 días después)

	ANTES DEL F.T.	DESPUES DEL F.T.
I.D.R. a PPD 2 UT	1/9 (11%)	4/9 (44%)
MIF a PPD 2 UT	4/9 (44%)	7/9 (77%)
MIF a VARIDASA	6/9 (66%)	3/9 (33%)
LINFOCITOS T PROMEDIO	25.3% $P=2.001$	47.9%
LINFOCITOS B PROMEDIO	23.6% $P=2.001$	36.2%

CIFRAS NORMALES: LINF. T 41 ± 9

LINF. B 32 ± 5

CUADRO 4

EVOLUCION CLINICA, RADIOLOGICA Y BACTERIOLOGICA DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR ACTIVA, MUY AVANZADA Y RESISTENTES A FARMACOS ANTIFIMICOS.

NOMBRE	EDAD	B.K. INGRESO	EVOL. CLIN.	RADIOLOGICA	B.K. EGRESO
M.J.F.	29	INCONTABLES	++	SIN CAMBIO	-
T.G.M.	15	INCONTABLES	++	++	-
I.G.R.	20	NUMEROSOS	+	SIN CAMBIO	-
R.C.Z.	40	NUMEROSOS	+++	++	-
M.F.H.	27	NUMEROSOS	++	++	-
D.R.E.	18	INCONTABLES	+	+	-
F.G.T.	40	INCONTABLES	++	SIN CAMBIO	+++
M.M.R.	65	INCONTABLES	++	++	-
J.S.S.	43	INCONTABLES	MURIO	SIN CAMBIO	INCONTABLES

SE APLICARON DE 4 A 8 UNIDADES DE F.T.

CUADRO 5

ESTADO GENERAL DE CINCO PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR AVANZADA ANTES DE SER SOMETIDOS A INMUNOTERAPIA CON F.T. (UNA UNIDAD).

NOMBRE	EDAD	DIAGNOSTICO	EVOLUCION	B.K. ING.	I.D.R.	ROSETAS	MIF	TRATAMIENTO ANTIFIMICO
M.J.F.	29	TBP de reinfección mixta, bilateral, excavada, muy avanzada.	14 años	incontables	Negativas	T 19 B 18	Negativo	I.N.H. No toleró ciclo. - ni Isoniazida
T.G.M.	15	TBP Hematógena, no excavada. Laringitis tuberculosa.	5 años	Numerosos	Negativas	T 15 B 26	CAN +	Antifímicos - primarios
I.C.R.	20	TBP de reinfección mixta, bilateral, multiexcavada, activa muy avanzada.	8 meses	Numerosos	Negativas	T 15 B 26	CAN + VAR + PPD -	Esquema I 6-- meses. Esquema II 3 meses
R.C.Z.	40	TBP Linfohematógena, peritonitis tuberculosa y neumonectomizada lado izquierdo.	-	Numerosos	Negativas	T 21 B 44		R.F.P., Isoniazida, ciclo ser y Treventix.
H.F.H.	27	TBP mixta, bilateral, excavada, activa muy avanzada.	7 años	Numerosas	Negativas	T 19 B 30		Esquema III

CUADRO 6
(continuación)

(ANTES DE SER SOMETIDOS A INMUNOTERAPIA CON 7 Y 8 UNIDADES)

NOMBRE	EDAD	DIAGNOSTICO	EVOLUCION	B.K. ING.	I.D.R.	ROSETAS	MIF	TRATAMIENTO ANTIFIMICO
O.R.E.	18	TBP de reinfección, activa, excavada en LSD muy avanzada.	3 años	Incontables	Negativas	T 26 B 18	PPD - CAN - VAR ++	Esquema I
M.M.R.	40	TBP de reinfección, activa, excavada -- muy avanzada.	3 años	Incontables	Negativas	T 33 B 23	PPD ++ CAN + VAR -	Antifimicos secundarios.
F.G.T.	65	TBP de reinfección, mixta, bilateral, - muy avanzada, detenida.	3 años	Incontables	Negativas	T 43 B 25	PPD + CAN - VAR ++	Esquema I y esquema III
J.S.S.	43	TBP de reinfección, bilateral, excavada muy avanzada.	9 años	Numerosos	Negativas	T 39 B 25		Antifimicos secundarios.

TBP: Tuberculosis pulmonar.

CUADRO 7

ESTADO GENERAL DE LOS PACIENTES DESPUES DE LA APLICACION DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA (UNA UNIDAD)

NOMBRE	F. DE T.	EVOLUCION POST AL F.T.	BASILOSCOPIA DE EGRESO	ROSETAS EGRESO	I.D.R.	MIF
M.J.F.	1 Unidad	Clínica ++ Radiol. sin cambio	Negativa	T 58 B 25	Negativas	CAN + PPD - VAR -
T.G.M.	1 Unidad	Clínica ++ Bact ++	Negativa	T 40 B 37	Negativas	PPD + CAN +++ VAR +++
I.C.R.	1 Unidad	Clínica + Bact ++	Negativa	T 32 B 29	?	PPD + CAN ++ VAR -
R.G.Z.	1 Unidad	Clínica +++ Radiol. ++ Bact ++ aumentó 20 Kg	Negativas	T 55 B 55	Negativas	PPD + CAN - VAR +
M.F.H.	1 Unidad	Clínica ++ Bact ++	Negativas	T 44 B 44	Negativas	PPD ++ CAN + VAR +

EVOLUCION:

REGULAR +
BUENA ++
EXCELENTE +++

CUADRO 7

ESTADO GENERAL DE LOS PACIENTES DESPUES DE LA APLICACION DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA (OCHO UNIDADES)

NOMBRE	F. DE T.	EVOLUCION POST AL F.T.	BASILOSCOPIA DE EGRESO	ROSETAS EGRESO	I.D.R.	MIF
D.R.E.	8 unidades	Clinica + Bact ++ Radiol. +	Negativo	T 53 B 29	Positivas	PPD ++ CAN ++ VAR -
M.M.R.	7 Unidades	Clinica ++	Numerosos	T 48 B 36	Positivas	PPD +++ CAN ++ VAR -
F.G.T.	8 Unidades	Clinica ++ Radiol. ++ Bact. ++	Negativo	T 59 B 50	Positivas	PPD + CAN ++ VAR +++
J.S.S.	8 Unidades	Murió	Numerosas	T 60 B 32	Positivas	PPD + CAN ++ VAR +++

VIII D I S C U S I O N

Algunos autores (31, 12, 8), han demostrado que los enfermos con tuberculosis pulmonar avanzada cursan con una depresión en su respuesta inmunecelular.

El FT ha sido utilizado en el tratamiento de casos aislados de tuberculosis pulmonar anérgica así como tuberculosis progresiva (27, 15), al parecer con buenos resultados.

En el estudio realizado en esta tesis, la evolución clínica fué favorable en 8 de los enfermos, la evolución bacteriológica fué buena en 8 de ellos y en 4 pacientes la evolución radiológica permaneció sin cambio. Una de las pacientes falleció por complicaciones respiratorias un mes después del tratamiento, aunque mostró buena evolución inmunológica.

Sabemos que la patogenia de la tuberculosis es debida a los siguientes factores:

- a) Virulencia del bacilo.
- b) Número de bacilos infectantes.
- c) Resistencia Natural.
- d) Inmunidad adquirida.
- e) Tejido donde ocurre.

El interés se enfoca principalmente en pacientes con defectos en la inmunidad celular, y que presentan resistencia-

a la terapia con antifímicos en ocasiones con estado de energía.

Se tienen evidencias que indican que en las enfermedades granulomatosas del tipo de la tuberculosis, existen mecanismos que provocan estados de energía e impiden la evolución de la enfermedad hacia la curación. [8]. Estos mecanismos son:

- a) Inducción de tolerancia.
- b) Competencia antigénica.
- c) Desequilibrio entre subpoblaciones de linfocitos T cooperadores y T supresores.
- d) Presencia en el suero, de factores bloqueadores de la respuesta inmune celular.

De acuerdo a lo anterior, podemos sugerir que el FT interviene en la corrección de algunos de los mecanismos mencionados anteriormente, con un consecuente incremento en la capacidad de la respuesta inmune celular para la eliminación de Mycobacterium.

El análisis de los cuadros 5 y 6 indica que los enfermos sufrían un cuadro clínico grave con muy mal pronóstico. En los cuadros 6 y 7 se observa la rápida mejoría clínica, bacteriológica aparentemente debida al FT. Esta rápida mejoría clínica permitió que los pacientes fueran dados de alta con mucha mayor rapidez que la esperada cuando son tratados con medicamentos y reposo solamente.

En el análisis del cuadro 7 observamos el incremento de los linfocitos T y 8 hasta alcanzar los valores normales. -

La respuesta celular "in vitro" (FIM) e "in vivo" con PPD, -
evolucioó hacia la positividad oscilando entre el 11 y el 77%
y de 0 al 44% de los pacientes respectivamente.

Las inmunoglobulinas IgG e IgM se incremento conside--
razblemente después del tratamiento y la IgA se conservó sin va-
riación y dentro de los valores normales. Las fracciones C_3 y
 C_4 del complemento no mostraron ninguna variación.

La electroforesis de proteínas mostró una elevación -
significativa en las fracciones albúmina y alfa I después del-
tratamiento y la fracción gamma se encontró por arriba de los-
niveles normales antes y después del tratamiento con factor de
transferencia.

IX CONCLUSIONES

-Los resultados obtenidos fueron excelentes (calificados así por los neumólogos encargados del Pabellón 5 del Instituto Nacional de Enfermedades Respirato I N E R), pero a pesar de ello, es necesario aumentar el número de pacientes para tener una muestra más representativa.

-Se deben realizar estudios "doble ciego" para obtener resultados indiscutibles acerca del valor real de este tipo de inmunoterapia.

-Se debe aumentar el número de determinaciones de cada parámetro, para poder graficarlos y así observar y comparar más fácilmente la evolución de los mismos, en cada paciente.

-Es necesario estudiar a los pacientes por un período más largo, para saber si esta buena evolución es persistente; pero su realización llevaría al menos un año más de estudio, - así como 40 unidades de FT (20 litros de sangre) que son muy difíciles de conseguir.

X V I B L I O G R A F I A

- 1.- Arala-Chávez, M.P., Mo. Horsmanhejmo, J.M. Coust and H.H.-Fudenberg. 1978. Biological and clinical aspects of transfer factor. Immunological Engineering. Ed. University Park Press. 35:82
- 2.- Bach, M.H., R.A. Good. 1974 Clinical Immunobiology. Vol. 2. Acad. Press. N.Y. & London. 125.
- 3.- Barret, J.T. 1970 Inmunología. Ed. Interamericana. 1a. - Edición, México. 13.
- 4.- Bernard, D., R. Dulbeco, H.N. Eisen, Cinsberg & W.B. Wood. 1976 Microbiology. Harper International, U.S.A. 842.
- 5.- Bloom, B.R. 1973. Does transfer factor act specifically - or as an immunologic adjuvant. N. Eng. J. Med. 288:908.
- 6.- Burdon, K.L. and R.P. Williams. 1978. Microbiología. Publicaciones Culturales, S.A. México.
- 7.- Burger, D.R., A. Pamela, A.A. Vanderbark, R.M. Vetto. 1979. A structural model suggested by enzymatic susceptibilities. Immune regulators in transfer factor. Acad. Pres. London.- 377.
- 8.- Dich, G. Immunological Aspects of Infectious Diseases. 1974. Ed. MTP. Press limited. Lancaster England. 434.

- 9.- Dresler, D. and S. Rosenfeld. 1974. On the chemical nature of transfer factor. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71:4429.
- 10.- Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N. México. - 1975. *Manual de prácticas de laboratorio de Inmunología*. - 2a. ed.
- 11.- Fudenberg, H.H., D.P. Stites, J.L. Caldwell. 1978. Inmunología Clínica. Ed. El manual Moderno, S.A. México.
- 12.- Fudenberg, H.H., D.P. Stites, J.L. Caldwell, J.V. Wells. - 1980. Basic and Clinical Immunology. 3a. Ed. Lange Medical Publ. U.S.A. 140.
- 13.- Gallin, J.I. and Ch. H. Kirkpatrick. 1974. Chemotactic activity in dialyzable transfer factor. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 71:498.
- 14.- Good, R.A. & D.W. Fisher. 1977. *Inmunología, Conceptos Básicos y aplicaciones Clínicas*. Pub. Med. España. 108.
- 15.- Hinshaw, H.C. 1970. Enfermedades del Tórax. Ed. Intersamericana. 3a. Ed. México. 527.
- 16.- Rha, A., W. Sellers, M.F. Carter, J. Pflanzan, A. Antonetti, J. Bailey and N.O. Hill. 1978. The usefulness of transfer factor in asthma, associated with frequent infections. *Ann Allerg.* 40:229.
- 17.- Kirkpatrick, Ch. H., L.B. Robinson & T.K. Smith. 1976. The identification and significance of Hyperantina indializable transfer factor. *Cell. Immunol.* 24:250.

- 18.- Kron, K., A. Votilia, P. Gron & J. Vaisanen. 1975 *Uracil-
in transfer factor*. *Lancet*. 1:1209.
- 19.- Lawrence, H.S. 1954. *The transfer in humans of delayed -
skin sensitivity, the streptococcal M substance and to -
tuberculin With disrupted leucocytes*. *J. Clin. Invest.* --
34:219.
- 20.- Lawrence, H.S. and F.T. Valentine. 1970. *Transfer factor-
and other mediators of cellular immunity*. *Am. J. Path.* -
60:437.
- 21.- Lawrence, H.S. 1969. *Transfer factor*, *Adv. Immunol.* 11:195.
- 22.- Levin, A.S. L.E. Spittler, D.P. Stites & H.H. Fudenberg, -
1970. *Wiskott-Aldrich syndrome, a genetically determined-
cellular immunologic deficiency: Clinical and laboratory-
responses to Therapy With transfer factor*. *Proc. Nat. --
Acad. Sci. U.S.A.* 67:821.
- 23.- Ollie, G., K. Amanullah & J.M. Hill. 1979 *Biological acti-
vity and characterization of immunopeptide. Immune regula-
tors in transfer factor*. 378.
- 24.- Pacheco, C.R. 1978. *El programa nacional de control de la
tuberculosis*, *Sal. Pub. Méx.* 20:141.
- 25.- Parish, H.J. 1965. *History of Immunization*. Ed. E & S. -
- 26.- Peetom, F., N.J. Florey. 1979. *Transfer factor in the --
treatment of disseminated Herpes zoster infection in Lon-
dond*. 457.

- 27.- Pelayo, C., J. Arias-Stella, T.R. Pérez, L.M. Carbonell.-
1975. *Texto de Patología*. La Prensa Médica Mexicana. 2a.-
Ed. México. 155.
- 28.- Pérez Tamayo, R.C. Larralde, Kretschmer. 1968. Inmupato--
logía. La Prensa Médica Mexicana. México. 330.
- 29.- Pérez Tamayo, R., C. Larralde y R.R. Kretschmer. 1968. -
Inmunología. Ed. La Prensa Médica Mexicana. México.
- 30.- Pio, A., K. Western. 1976. *Enfoques para el control de -
la tuberculosis en las Américas*. Boletín de la Oficina --
Sanitaria Panamericana.
- 31.- Roitt, I.M. 1980. *Essential Immunology*. Blackwell Scienti-
fic publications. 4a. Ed. Great Bretain. 241.
- 32.- Rubinstein, A., J. Melamed, D. Rodescu with the technical
assistance of R.A. Murphy and D. Brocker. 1976. *Transfer-
factor in treatoen of a patient with progressive tubercu-
losis*. Clin. Immunol and Immunphato. 8:39.
- 33.- Stjensward, J., A. V. F., M. Jondal and change didtribu--
tion of human B and T lymphocytes in peripheral blood in-
duced by irradiation of mammary carcinoma. *Lancet*. 1:1352.
- 34.- Williams, R., A.L. Eddleston. 1979. *Chronic active hepati-
tis: Immunopkatogenesis and immunotherapy*. J. Med. Sei. -
15:261.