

56
2a



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

EFEECTO DE LA UTILIZACION DEL FACTOR DE
TRANSFERENCIA COMO INDUCTOR DE LA
INMUNIDAD CELULAR EN LA PREVENCION
DEL COLERA PORCINO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
LUZ ELENA CHAVEZ GUITRON

Asesores: M.V.Z. Fernando Olguín Romero
M.V.Z. Joaquín Becerril Angeles
M.V.Z. Aurora Velázquez Echegaray



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

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
MATERIAL Y METODOS.....	9
RESULTADOS.....	17
DISCUSION.....	23
LITERATURA CITADA.....	23

RESUMEN

CHAVEZ GUITRON LUZ ELENA. Efecto de la utilización del factor de transferencia como inductor de inmunidad celular en la prevención del Cólera Porcino (bajo el asesoramiento de los M.V.Z. Aurora Velázquez Echegaray, Fernando Olguin Romero y Joaquín Becerril Angeles).

Se evaluó el efecto del factor de transferencia (FT) en la prevención del cólera porcino (CP). El FT se obtuvo de leucocitos circulantes de un animal hiperinmunizado. Para el primer grupo experimental se utilizaron 15 animales de 8 semanas de edad que se dividieron en tres subgrupos de 5 animales cada uno. Al primer grupo se le trató con FT, al segundo grupo con vacuna anticólera y al tercero con solución salina fisiológica (SSF). Se realizó una prueba de inhibición de la migración de los leucocitos (LIF) siete días antes y quince días después de la aplicación del tratamiento. En otro grupo experimental se utilizaron también 15 animales recién nacidos que se dividieron en tres subgrupos cada uno. El primer subgrupo fue tratado con FT, el segundo subgrupo fue vacunado a los 42 días de edad y el tercero quedó como testigo. Se realizó una prueba de LIF a los 56 días de edad. En ambos grupos a los 71 días de edad se inoculó uno de los animales testigo de cada grupo con 10⁶ dosis infectante cercó (DIC) de virus virulento de CP cepa Ames y se mantuvo en convivencia con el resto de los animales tratados. Se

observó el comportamiento clínico durante 21 días después del desafío el cual se evaluó según la técnica de Torrey et al. En los dos grupos experimentales los animales con FT y los testigo murieron sin embargo los animales con FT tuvieron un periodo de incubación más largo y permanecieron más tiempo enfermos en comparación con los testigo. Se hacen consideraciones sobre las posibles causas que explicarían los resultados.

INTRODUCCION

El Cólera Porcino (CP) o Peste Porcina Clásica es una de las principales fuentes de pérdidas económicas para la industria porcina nacional. ya que ocasiona gran mortalidad, retraso en el crecimiento, trastornos reproductivos y provoca que se tengan que hacer mayores gastos médicos. Además impide que la industria porcina pueda desarrollarse a nivel internacional por la imposibilidad de exportar carne y pie de cría a países libres de la enfermedad (20).

El CP es una enfermedad causada por un virus de la familia Togaviridae del género Pestivirus que afecta en forma natural exclusivamente al cerdo. Los animales de todas las edades son igualmente susceptibles (4, 7, 9, 18).

La forma en que se adquiere el virus es por vía oral o respiratoria, observándose primero la replicación viral en las tonsilas faríngeas. Se puede encontrar viremia 16 a 18 horas después de la infección que se manifiesta como una disminución en el número de leucocitos y plaquetas en sangre. El virus se disemina entonces a los órganos del sistema retículo endotelial (médula ósea, timo, bazo y ganglios linfáticos) y a los endotelios vasculares donde se replica y produce degeneración hidrópica. Como consecuencia de esta degeneración del endotelio se puede producir dificultad en la circulación capilar y en las arteriolas, lo que ocasiona la formación de pequeños trombos y zonas de infartos en casi todos los órganos. El endotelio vascular debilitado también propicia que se produzcan hemorragias

petequiales y sufusiones o ambas y zonas de infarto en casi todos los órganos parenquimatosos (7, 9, 16, 20).

El virus se elimina de los animales infectados con todas las secreciones y excreciones las cuales pueden contaminar agua, alimento y equipo que esté en contacto con otros cerdos. Los artrópodos, helmintos y nematodos en contacto con excretas de cerdos infectados pueden ser vectores mecánicos de la enfermedad, asimismo se ha observado la transmisión transplacentaria (4, 7, 9, 20). Experimentalmente el virus puede transmitirse a cerdos susceptibles por cualquier vía excepto cuando se coloca en el estómago en una cápsula de gelatina donde sufre la acción del jugo gástrico que lo destruye (3, 14).

Dependiendo de la virulencia del virus, de la dosis infectante y del estado inmunológico de los animales se pueden presentar cursos de la enfermedad sobreagudos, agudos, subagudos y crónicos siendo en la actualidad los cursos agudos los más frecuentes (4, 7, 15, 20).

Clinicamente la enfermedad se manifiesta con animales que muestran apilamiento, depresión, fiebre, anorexia, conjuntivitis, diarrea que alterna con periodos de constipación, disnea, eritema generalizado, incoordinación, parálisis, postración y muerte (4, 7, 9, 15, 18, 20).

Entre el 2 y el 5 % de los cerdos presentan resistencia natural a la infección (4). La inmunidad puede ser adquirida en forma natural pasiva a través del calostro o artificialmente por la administración del suero hiperinmune

por vía parenteral. La inmunidad activa se adquiere en forma natural cuando los animales sobreviven a la infección natural y quedan entonces inmunes de por vida o artificialmente por la exposición a una dosis subletal del virus o por la vacunación con virus inactivado o vivo modificado que provoque una respuesta inmunológica suficiente (4, 7, 15).

Para provocar la inmunidad activa artificial existen varias clases de vacunas como las lapinizadas que confieren una inmunidad duradera y estable, sin embargo pueden producir reacciones posvacunales graves además de permitir la diseminación del virus con la posible reversión de la virulencia por pases en condiciones naturales; las vacunas inactivadas las cuales no difunden el virus pero producen un inmunidad de corta duración por lo que al establecer un calendario de vacunación éste tendría que hacerse más cerrado. Esto implicaría un mayor manejo y un aumento en el costo de producción por concepto de vacunaciones. Además ya que estas vacunas se realizan con sangre infectada se podrían presentar problemas de incompatibilidad de grupo sanguíneo. Finalmente vacunas de virus vivo atenuado elaboradas en cultivo celular que aún conservan cierto grado de virulencia y la posibilidad de convertir a la cerda en diseminadora de la enfermedad cuando se vacuna durante la gestación. Además presenta todas las desventajas de un producto liofilizado cuando se maneja bajo condiciones de una cadena fría ineficiente (16, 20).

Al entrar a un animal susceptible el virus de CP es reconocido como un agente extraño. El sistema inmune responde a este estímulo con la producción de anticuerpos, inmunidad conocida como de tipo humoral, y con la aparición de células T ó inmunidad de tipo celular (5, 18, 27).

En el caso del CP, al igual que en otras enfermedades virales, la inmunidad celular es la que tiene mayor actividad. En los últimos años se han estudiado métodos para estimular la inmunidad celular, en 1955, Lawrence (14) descubrió que los extractos de leucocitos de individuos sensibilizados tenían la capacidad de transferir inmunidad celular a individuos no sensibilizados. Estos extractos podían dializarse y el producto con peso molecular menor a 10,0 00 daltones (Da), conservaba su capacidad de transferir inmunidad celular y tenía la ventaja de no contener sustancias antigénicas que produjeran respuesta indeseables en los receptores aún cuando se aplicaran en dosis repetidas (10, 11, 13, 27, 28).

Lawrence (15) cita que el extracto dializable de leucocitos (EDL) o Factor de Transferencia (FT) obtenido de individuos sensibilizados estimulaba en el receptor la inmunidad de tipo celular con todas sus manifestaciones como son un aumento en la cantidad de linfocitos, un aumento del factor quimiotáctico, del factor inhibidor de la migración de los macrófagos (MIF) y del factor inhibidor de la migración de los leucocitos (LIF) entre otros .

Tanto en humanos como en animales el FT se ha empleado con éxito en la prevención y tratamiento de enfermedades bacterianas, micobacterianas, virales, parasitarias, inmunodeficiencias y neoplasias. Como ejemplo se pueden mencionar: brucelosis, candidiasis, tuberculosis, varicela, herpes, sarampión, osteosarcoma y melanoma, siendo en todas estas la inmunidad celular de gran importancia (1, 6, 10, 11, 17, 24, 25).

En México se ha trabajado el FT en la prevención de algunas enfermedades de los cerdos como diarreas por colibacilosis (19, 23) rinitis atrófica (2) y enfermedad de Aujeszky (20) con muy buenos resultados sin embargo no existen trabajos en los que se observe el efecto del FT como inductor celular en el CP.

HIPOTESIS ALTERNA: El factor de transferencia obtenido de los leucocitos circulantes de un cerdo hiperinmunizado contra Cólera Porcino transfiere sensibilización específica a cerdos susceptibles receptores.

HIPOTESIS NULA: El factor de transferencia obtenido de los leucocitos circulantes de un cerdo hiperinmunizado contra Cólera Porcino no transfiere sensibilización celular específica a cerdos susceptibles receptores.

OBJETIVO: Evaluar el efecto del factor de transferencia como inductor de la inmunidad celular en la prevención del Cólera Porcino.

MATERIAL Y METODOS

I. Localización.

El trabajo se llevó a cabo en la Granja Experimental Porcina "Zapotitlan" y en el laboratorio de Virología e Inmunología ambos pertenecientes a la FMVZ de la UNAM. La granja se encuentra ubicada en la parte sureste de la cuenca del Valle de México en la calle de Manuel M. López s/n, a la altura del km. 21.5 de la carretera México-Tulyehualco en el perímetro del pueblo de Zapotitlan en la Delegación Tláhuac. D.F. (26).

II. Animales y grupos experimentales.

Para la investigación se utilizó en la primera fase una cerda de décimo parto la cual se hiperinmunizó y de ella se obtuvo la sangre para la preparación del FT. Para la segunda y tercera fase se utilizaron quince cerdos de 56 días de edad y quince cerdos recién nacidos. Estos grupos fueron divididos en tres grupos de 5 animales cada uno. El primer subgrupo fue tratado con FT, el segundo subgrupo fue vacunado y el último subgrupo fue el testigo.

III. Procedimiento experimental.

Con el fin de obtener los leucocitos circulantes de un individuo inmune, se hiperinmunizó una cerda de décimo parto mediante la aplicación en dos ocasiones de una dosis de la vacuna de CP cepa PAV-18. El intervalo entre las dos aplicaciones fue de 7 días.

Diez días después de la última inoculación en la cerda se midió la inmunidad celular mediante la prueba de inhibición de la migración de los leucocitos (LIF) de acuerdo a la técnica descrita por Retana (21).

Cinco días después de realizada la prueba de LIF se desafió por vía intramuscular con 10⁶ dosis infectantes cerdo (DIC) 50% de virus virulento de CP cepa Ames* contenidas en 3 ml.

Quince días después del desafío la cerda se sacrificó por choque eléctrico y por degüello se obtuvieron 2.5 litros de sangre lo más asepticamente posible en un recipiente con solución de Aisevers (4) para evitar la coagulación. La sangre fue centrifugada a 166 G durante 10 minutos con objeto de desechar el plasma y la mayor cantidad de glóbulos rojos y obtener la capa blanca. Esta última fue suspendida en solución salina fisiológica estéril (SBF) para ser nuevamente

* Porcivac. Química Hoechst de México. México, D.F.

* Proporcionada por el Laboratorio de Virología e Inmunología de la FMVZ de la UNAM.

centrifugada a 166 G durante 10 minutos con el fin de obtener los leucocitos lavados. Los ciclos de resuspensión y centrifugación se repitieron hasta obtener un paquete de leucocitos libres de eritrocitos y plasma, esto es con apariencia totalmente blanca del paquete celular y el líquido de suspensión totalmente claro. Con el objeto de conocer la cantidad de leucocitos obtenidos se utilizó el hematocitómetro según la técnica descrita por Benjamin (3).

Para la obtención del FT se siguió la técnica de Lawrence (14), que consistió en ocasionar la lisis del paquete de leucocitos mediante diez procedimientos sucesivos de congelación a -70°C y descongelación a 37°C . El producto obtenido se dializó en un tubo de celulosa para diálisis con un poro de corte de 12,000 a 14,000 Da de peso molecular contra 100 ml de agua destilada durante 48 horas. Las sustancias con peso molecular mayor a 14,000 Da que retuvo el tubo de diálisis se desecharon y las sustancias dializadas fueron distribuidas en alícuotas de 10 ml y conservadas en congelación a -70°C .

Una unidad de FT (UFT) se obtuvo a partir del dializado de los leucocitos circulantes contenidos en 500 ml de sangre o de 3×10^7 leucocitos circulantes (17). Para el presente trabajo se obtuvieron a partir de 2.5 litros de sangre 5 UFT

distribuidas en diez alícuotas de 10 ml cada una. Una dosis de FT es igual a 1/80 UFT por kg de peso.

Para evaluar el efecto del FT como inductor de inmunidad celular en el CP y compararlo con el efecto preventivo de la vacunación, se utilizaron en el primer grupo experimental quince cerdos de 8 semanas de edad que no hubieran sido vacunados contra CP divididos en tres grupos con 5 animales cada grupo. Un grupo fue tratado con FT administrado por vía parenteral a las 8 semanas de edad, otro grupo fue vacunado con cepa china lapinizada ** a las 8 semanas de edad y el grupo testigo al cual se le administraron 2 ml de SSF a las 8 semanas de edad. A los animales del grupo tratado el FT se les administró de acuerdo al siguiente calendario.

** Certivong, Laboratorios Syntex. México, D.F.

Cuadro 1. Calendario de inmunización de los animales tratados con FT en el primer grupo experimental

Animal	Dosis	Días*
1	1	1
2	2	1
3	3	1
4	2	1,4
5	3	1,4 y 7

* El día 1 correspondió al día 56 de edad de los cerdos

Antes de la primera aplicación y después de la última administración del FT en cada animal se midió la inmunidad celular mediante la técnica de LIF descrita por Retana (21).

Para evaluar el efecto del FT como inductor de inmunidad celular cuando se administra al nacimiento y compararlo con el efecto preventivo de la vacunación se utilizaron en el segundo grupo experimental quince cerdos de un día de edad divididos en tres grupos con 5 animales cada uno. Un grupo fue tratado con 1/80 UFT por kg intraperitonealmente al nacimiento, otro grupo

fue vacunado intramuscularmente con cepa china lapinizada a las 6 semanas de edad y al grupo testigo se le administró 1 ml de SSF por vía intraperitoneal al nacimiento. A los 56 días de edad de los cerdos se midió la inmunidad celular mediante la técnica descrita por Retana (21).

Para los dos grupos experimentales a los 71 días de edad de los cerdos, uno de los animales de cada grupo testigo fue inoculado con 10⁶ DIC 50 % de virus virulento de CP cepa Ames contenidas en 2 ml. Estos animales permanecieron en convivencia estrecha con los cerdos inoculados con FT, con los animales vacunados y con los otros cerdos del grupo testigo. Este procedimiento tuvo por objeto exponer a los cerdos que recibieron el FT imitando las condiciones naturales y en la forma más severa posible. Todos los animales se observaron durante 21 días después de la exposición y sus reacciones se evaluaron siguiendo la técnica descrita por Torrey et al. (29), para los productos inmunizantes contra el CP. Esta técnica consistió en anotar diariamente en una hoja de registro, desde el día de la exposición y durante 21 días el comportamiento de cada animal otorgándole un valor de acuerdo al Cuadro 2.

Cuadro 2. Escala de valores para el comportamiento de los cerdos desafiados con Cólera Porcino, según Torrey et al. (29)

Comportamiento	Valor en puntos
Normal, sin reacción	0
No comió toda la ración	1
Fiebre, depresión, ligera anorexia y permanece echado la mayor parte del tiempo	2
Fiebre, anorexia y depresión profunda	3

Se obtuvieron los valores acumulados por animal y se compararon los resultados obtenidos con la siguiente clasificación.

Cuadro 3. Clasificación de los tipos de reacción ante el desafío de Cólera Porcino de acuerdo a los puntos acumulados por animal según Torrey et al. (29)

Puntos	Reacción
0	Normal
1	Ligera
2	Severa
3	Grave

Para aprobar la eficacia del producto inmunizante es permitido hasta un 20 % de reacciones ligeras con un mínimo de 80 % de sobrevivencia. Se confirmó el diagnóstico

por la observación de lesiones macroscópicas y microscópicas a la necropsia y por la realización de la prueba de inmunofluorescencia directa (8,12).

RESULTADOS

El resultado de la prueba de LIF (factor de inhibición de la migración de los leucocitos) para determinar el estado inmune de la cerda después de la hiperinmunización fue de 89.32 % de inhibición.

La cantidad de leucocitos circulantes obtenidos a partir de la sangre de la cerda hiperinmunizada para la preparación del FT fue de 8.56×10^6 células en 5 ml.

Los resultados de las pruebas de LIF realizadas para el primer grupo experimental siete días antes y quince días después de la aplicación del FT se muestran en el Cuadro 4. Se observa de manera general que los animales tratados con FT fueron los que presentaron mayor respuesta promedio de inhibición. Para el subgrupo tratado con FT se obtuvieron porcentajes de inhibición promedio de 7.98 antes y 42.61 después de la aplicación del FT, para el subgrupo vacunado se obtuvieron porcentajes promedio de 10.97 antes y 37.14 después de la vacunación y para el subgrupo testigo se obtuvieron porcentajes promedio de 12.55 antes y 13.60 después de la aplicación de la SSF.

Los resultados de las pruebas de LIF del segundo grupo experimental después de la aplicación del FT y de la vacunación se muestran en el Cuadro 5 observándose la misma tendencia que en el primer grupo experimental esto es, los animales tratados con FT mostraron la mayor respuesta. Se obtuvieron porcentajes promedio de inhibición de 38.5, 37.9a

y 12.69 para el subgrupo tratado con FT, para el subgrupo vacunado y para el subgrupo testigo respectivamente.

El comportamiento clínico de los cerdos desafiados con virus virulento de Cólera Porcino cepa Ames para los dos grupos experimentales se señala en los Cuadros 6 y 7. Todos los animales de los subgrupos tratados con FT y los testigo de ambos grupos experimentales murieron mostrando reacciones ligeras, severas y graves. En los animales vacunados de los dos grupos experimentales se observaron menos del 20 % de reacciones ligeras y ningún cerdo murió.

Los cerdos testigo sin ningún tratamiento de ambos grupos enfermaron rápidamente; el promedio para el primero fue de 4.8 días, de 4.2 para el segundo y permanecieron mostrando signos durante 9.4 y 9.2 días respectivamente. En contraste los animales tratados con FT en el primer grupo tuvieron un periodo de incubación de 5 días y murieron hasta después de 10.4 días después de haber mostrado signos de la enfermedad. En el segundo grupo los animales tratados con FT mostraron un período de incubación de 4.2 días y la enfermedad se prolongó durante 13.6 días en promedio antes de la muerte.

La causa de la muerte de los animales fue atribuida a la infección por el virus de cólera ya que mostraron signos y lesiones macroscópicas característicos de la enfermedad. Este diagnóstico fue confirmado por la observación de lesiones histopatológicas características y por la prueba de inmunofluorescencia.

Cuadro 4. Resultados de las pruebas de LIF expresados en porcentaje de inhibición siete días antes y quince después de la aplicación del tratamiento o vacunación al primer grupo experimental

Tratamiento	Cerdo número	Antes	Después
* FT	1	6.12	29.84
	2	8.25	71.43
	3	11.62	51.85
	4	5.14	32.25
	5	8.79	27.71
	\bar{x} =	7.98	42.61
** Vacunado	6	13.22	54.39
	7	9.81	26.92
	8	7.92	39.58
	9	14.55	42.73
	10	9.37	22.11
	\bar{x} =	10.97	37.14
*** Testigo	11	16.56	19.86
	12	17.13	19.49
	13	6.25	6.21
	14	9.25	10.15
	15	13.59	12.19
	\bar{x} =	12.55	13.60

* Cerdos tratados con diferentes dosis de FT por vía intramuscular a los 56 días de edad. El calendario de inmunización se muestra en el Cuadro 1 en el capítulo de material y métodos.

** Cerdos tratados con vacuna de cólera porcino cepa china lapinizada, por vía intramuscular, Certivong, Laboratorios Syntex, Mexico, D.F a los 56 días de edad

*** Cerdos testigo a los que se les administró únicamente 2 ml de S.S.F. por vía intramuscular a los 56 días de edad

\bar{x} promedio por grupo

Cuadro 5. Resultados de las pruebas de LIF expresados en porcentaje de inhibición quince días después de la aplicación del tratamiento en el segundo grupo experimental

Tratamiento	Cerdo número	Porcentaje de inhibición
* FT	1	26.39
	2	48.37
	3	35.27
	4	50.21
	5	32.36
	\bar{x}	38.50
** Vacunado	6	31.21
	7	52.00
	8	43.14
	9	33.91
	10	29.48
	\bar{x}	37.94
*** Testigo	11	14.13
	12	11.10
	13	15.91
	14	13.00
	15	9.34
	\bar{x}	12.69

* Cerdos tratados con 1/80 UFT por kg. de peso por vía intraperitoneal al nacimiento.

** Cerdos vacunados con cepa china lapinizada, Certivong, Laboratorios Syntex, México, D.F. por vía intramuscular a los 42 días de edad

*** Cerdos testigo a los que se les administró 1 ml de S.S.F. por vía intraperitoneal al nacimiento

x promedio por grupo

Cuadro 6. Evaluación del comportamiento clínico de los cerdos del primer grupo experimental con virus de Cólera Porcino cepa Ames con 10⁸ DIC según la técnica de Torrey *et al.* (29)

Tratamiento	Cerdo	Días después del desafío																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
* FT	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	M
	2	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	M
	3	0	0	0	0	1	1	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	M
	4	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	M
	5	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	M
** Vacunado	6	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
*** Testigo	11	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2	3	3	3	M								
	12	0	0	1	2	2	2	3	3	3	3	M											
	13	0	0	0	0	0	1	2	2	3	3	M											
	14	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3	3	3	3	M								
	15	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	M

M Muerte

* Cerdos tratados con diferentes dosis de FT por vía intramuscular a los 56 días de edad. El calendario de inmunización se muestra en el Cuadro 1 del capítulo de material y métodos.

** Cerdos tratados con vacuna de cólera porcino, por vía intramuscular, cepa china lapinizada, Certivong, Laboratorios Syntex, México, D.F. a los 56 días de edad

*** Cerdos testigo a los que se les administró únicamente 2 ml de S.S.F. por vía intramuscular a los 56 días de edad

† Cerdo que fue desafiado con 3ml que contenían 10⁸ DIC por vía intramuscular y se dejó convivir con los demás cerdos del grupo experimental

El significado de los valores 0,1,2 y 3 para el comportamiento clínico se indica en el cuadro 2.

Cuadro 7. Evaluación del comportamiento clínico de los cerdos del segundo grupo experimental con virus de Cólera Porcino cepa Ames con 10^6 DIC según la técnica de Torrey et al (29).

Tratamiento	Cerdo	Días después del desafío																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
* FT	1	0	0	0	0	1	1	2	2	3	3	3	M										
	2	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	3	M					
	3	0	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	M	
	4	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	3	M				
	5	0	0	0	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	M	
** Vacunado	6	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
*** Testigo	11	0	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2	3	3	M								
	12	0	0	0	0	1	1	2	2	2	3	3	M										
	13	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	3	3	M									
	14	0	0	1	1	2	2	2	3	3	M												
	15	0	0	0	0	1	1	2	2	2	3	3	3	3	M								

M Muerte

* Cerdos tratados con 1/80 UFT por kg de peso por vía intraperitoneal al nacimiento

** Cerdos tratados con vacuna de cólera porcino, cepa china lapinizada, Certivong, Laboratorios Syntex México, D.F. a los 56 días de edad

*** Cerdos testigo a los que se les administró únicamente 1 ml de S.S.F. intramuscular al nacimiento

* Cerdo que fue desafiado con 3 ml de virus virulento de cólera porcino que contenían 10^6 DIC por vía intramuscular y se dejó convivir con los demás cerdos del grupo experimental

El significado de los valores 0, 1, 2 y 3 para el comportamiento clínico se indica en el cuadro 2.

DISCUSION

En este trabajo el factor de transferencia preparado de la manera anteriormente descrito no dio protección completa contra el virus del Cólera Porcino.

El efecto preciso del FT sobre el sistema inmunocompetente aún no se ha dilucidado. Lawrence y Borkowsky (15) encontraron que el FT presenta varias fracciones con diferentes efectos. Esto es, una fracción de acción de adyuvante inespecífica con sustancias como histamina, bradiquinina y serotonina de menos de 3,500 Da de peso molecular; una fracción inductora específica de antígeno y una fracción supresora también específica con un peso molecular entre 10,000 y 12,000 Da.

Los autores mencionados indican que la fracción inductora es producida por los linocitos T cooperadores y que éstos presentan un receptor de antígeno. Sin embargo la fracción supresora de las células T equivalentes parece establecer una competencia con el antígeno por el receptor de las células cooperadoras. Podría ser que el dializado de leucocitos utilizado en este trabajo contuviera una gran cantidad de la fracción supresora y que mediante el mecanismo señalado se haya bloqueado o suprimido la acción beneficiosa del FT. Los propios Lawrence y Borkowsky han señalado que esto llega a suceder en ensayos clínicos.

La cantidad de leucocitos circulantes que se obtuvieron de la cerda hiperinmunizada fue ligeramente mayor a la que se

esperaba obtener en los 2.5 l de sangre que se colectó. Es importante tomar en cuenta que el animal del cual se obtuvo el FT era una cerda de décimo parto la cual tenía ya doce vacunaciones contra el CP y se sometió posteriormente a un calendario de inmunización. Lo anterior es importante ya que se sabe que los mejores resultados del FT se obtienen cuando los animales donadores son hiperinmunes. En este caso, a pesar de que la cerda resistió la exposición al virus virulento, no hubo oportunidad de detectar el perfil inmunológico más que con la prueba de LIF en la que se corroboró el estado inmune de la cerda.

El animal donador aunque resistente al desafío con virus vivo virulento era un animal viejo con varias vacunaciones que pudo haber presentado un estado de anergia en el cual se sabe que la eficiencia funcional de las células del sistema inmune disminuye. Además en este estado se presenta un desarrollo marcado de células supresoras y una disminución en el desarrollo de las células cooperadoras (27, 28). Esto podría explicar los resultados considerando que tal vez la cerda donadora presentaba gran número de células T supresoras dando un FT rico en esta fracción.

Los dializados de los extractos de leucocitos pueden tener efectivamente estos dos efectos antagónicos y para evitarlos sería necesario purificarlos como señalan Lawrence y Borkovsky (15).

Al comparar el tiempo de incubación y el tiempo que permanecieron enfermos los animales tratados con FT y los

testigo se puede observar que los animales tratados con FT tuvieron un periodo de incubación más largo y tardaron más tiempo en morir. Este hecho se podría explicar asumiendo que de alguna manera el FT estimuló al sistema inmune para combatir y tratar de eliminar la infección viral, sin embargo, no fue suficiente para evitar la muerte de los animales afectados. Posiblemente al aumentar la dosis utilizada se pudieran obtener mejores resultados.

Los resultados de las pruebas de LIF de los dos grupos experimentales muestran que los animales tratados con FT tuvieron un promedio de inhibición ligeramente mayor a los animales vacunados lo que sugeriría que el FT estimuló al sistema inmune, sin embargo el antígeno que se utilizó para la prueba de LIF es un antígeno vacunal, no purificado es decir posee restos de antígenos celulares por lo que existe la probabilidad de que se presenten reacciones inespecíficas como sucede en otras pruebas serológicas diagnósticas.

En otros trabajos realizados con FT en enfermedades como colibacilosis, rinitis atrófica y aujeszky se han obtenido resultados satisfactorios (2, 22, 23).

Sería conveniente que en trabajos posteriores se tomara en cuenta que los animales donadores fueran jóvenes a fin de evitar el mecanismo señalado anteriormente y no obtener gran cantidad de células supresoras. Otras investigaciones también deberían incluir el utilizar dosis mayores de FT y demostrar si este es entonces capaz de transferir inmunidad al virus del CP así como comprobar si los animales tratados

con FT resisten al desafío eliminando completamente al virus de su organismo y quedando libres de la infección.

LITERATURA CITADA

1. Al-Ansari, M. H. H.: Transfer factor activity of dialyzable lymph node extracts from cattle infected with Brucella abortus. Diss. Abstr. Int., 43: 3083 (1983).
2. Arellano, L. J. A.: Efecto de la utilización del factor de transferencia como inmunopotenciador celular para el control y la prevención de la rinitis atrófica. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1986.
3. Benjamin, M. M.: Manual de Patología Clínica en Veterinaria. Limusa, México, D.F. 1984.
4. Dunne, W. H. and Leman, A.D.: Diseases of Swine. 4th. ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1975.
5. Garvey, J. S., Cremer, N. E. and Sussdorf, D. H.: Methods in Immunology. 3rd. ed. W.A. Benjamin, Massachusetts, 1977.
6. Giambone, J. J., Klesius, P. H. and Yu, M.: Adoptive transfer of delayed wattle reactivity in chickens with a dialyzable leukocyte extract containing transfer factor. Poult. Sci., 62: 767-771 (1983).
7. Gillespie, H. J. and Timoney, J. F.: Hagan and Bruner's Infectious Diseases of Domestic Animals. 7th. ed. Cornell University Press, Ithaca, N. Y., 1981.
8. Goldman, M.: Fluorescent antibody methods. Academic Press, New York, 1960.
9. Harkness, J. W.: Classical swine fever and its diagnosis. A current view. Vet. Rec., 116: 288-293 (1985).
10. Juárez, J., Díaz, M., Rébora, F., Velasco, O., Padierna, J. y Estrada-Parra, S.: Inmunoterapia de la tuberculosis pulmonar avanzada con factor de transferencia específico. Sal. Pub. Mex., 25: 589-600 (1983).
11. Kaminkova, J. and Lange, Ch. F.: Transfer factor and repeated otitis media. Cell. Immunol., 89: 259-264 (1984).
12. Kawamura, A.: Fluorescent antibody techniques and their applications. 2nd. ed. University of Tokio Press, Tokio, 1977.

13. Kumeda, Y.: Immunological influences on suckling-piglets diarrhea upon administration of swine peripheral blood extract: transfer factor. Jpn. J. Vet. Res., 29: 26 (1981).
14. Lawrence, H. S.: The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal-M substance and to tuberculin with disrupted leukocytes. J. Clin. Invest., 34: 219 (1955).
15. Lawrence, H. S. and Borkowsky, W.A.: New clues to the structure and function of transfer factor. Cell. Immunol. 82: 102-106 (1983).
16. Leman, A. D., Glock, R. D., Mengeling, L. W., Penny, R. H. C., Scholl, E. and Straw, B.: Diseases of Swine. 5th. ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1984.
17. Mackenzie, G., Hunter, A. R. and Ross, J. G.: The effect of transfer factor treatment on two challenge infections of Haemonchus contortus in immunocompetent 7 month-old lambs. Vet. Res. Commun., 8: 283-292 (1984).
18. Mohanty, S. B. and Dutta, S. K.: Virologia Veterinaria. Interamericana., Mexico, D.F., 1981.
19. Namioka, S., Kumeda, Y., Kawano, C. T., Wang, C. T., Namba, Y. and Murakami, K.: The influence of immunopotentiators on suckling piglets with special reference to the incidence of pig scour. Br. Vet. J., 138: 155-167 (1982).
20. Necoechea, R. R. y Pijoan A. C.: Enfermedades de los Cerdos. Editado por Ramiro Ramirez Necoechea y Carlos Pijoan Aguade, Mexico, D.F., 1986.
21. Retana, R. A.: La prueba de FIM en el control de las vacunas contra la infección de la Bolsa de Fabricio (IBF). Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., 1981.
22. Rodríguez, L. D. A.: El factor de transferencia en la enfermedad de Aujeszky. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., 1987.
23. Rojas, B. S. D.: Uso del suero hiperinmune y del factor de transferencia para la prevención y tratamiento de la colibacilosis neonatal en lechones. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., 1987.

24. Ross, J. G. and Halliday, W. G.: Investigation of the transfer factor of immunity to gastrointestinal nematode infections in sheep by leukocyte lysates. Vet. Rec., 102: 240-241 (1978).

25. Ross, J. G. and Halliday, W. G.: Investigations of the transfer factor activity in resistance to Trichostrongylus colubriformis infections in guinea-pigs. J. Helminth., 56: 27-35 (1982).

26. Santibañez, A. E.: Evaluación económico-administrativa de una explotación porcina para 120 vientres dedicada a la docencia. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1981.

27. Stites, D. P. Stobo, J. D., Fudenberg, H. T. y Wells, J. V. : Inmunología Clínica Básica. 5ª. ed. Manual Moderno, México, D. F., 1985.

28. Tizard, I.: Inmunología Veterinaria. 2ª. ed. Nueva Editorial Interamericana, México, D. F., 1984.

29. Torrey, J. P., Barney, G. H. and Marmesh, M.: Crystal violet vaccine experiment. Proceedings 62nd. Meeting United States Livestock Sanitary Association Miami, Florida. 1958. 271-277, United States Livestock Sanitary Association. Miami, Fla. (1958).