



47  
24  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**EVALUACION CLINICA DE LA APLICACION  
DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA EN  
PERROS AFECTADOS POR EL  
PARVOVIRUS CANINO TIPO 2**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO  
ZOOTECNISTA  
POR**

**JORGE FABIAN GARCIA HERNANDEZ**

**ASESORES: MVZ. LUIS ANTONIO CALZADA N.  
MVZ. ANGEL RETANA REYES**



**MEXICO, D. F.**

**MAYO 1996**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



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.

**EVALUACIÓN CLÍNICA DE LA APLICACIÓN  
DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA EN  
PERROS AFECTADOS POR EL  
PARVOVIRUS CANINO TIPO 2**

**Tesis presentada ante la División de Estudios  
Profesionales de la Facultad de Medicina  
Veterinaria y Zootecnia de la  
Universidad Nacional Autónoma de México  
para la obtención del título de Médico  
Veterinario Zootecnista por**

**JORGE FABIÁN GARCÍA HERNÁNDEZ**

**Asesores:**

**MVZ LUIS ANTONIO CALZADA NOVA  
MVZ ANGEL RETANA REYES**

**México, D.F.**

**1996**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A MYRNA:** Por el apoyo que siempre me ha brindado.

**DR. ANGEL RETANA:** Por todas las prestaciones y apoyo para la realización de este trabajo.

**DR. JUAN MONROY:** Por su desinteresada ayuda.

**A MIS COMPAÑEROS DE GENERACIÓN Y DEL HOSPITAL:** Por todo lo que hemos vivido.

**A SAÚL Y LUPITA:** Por brindarme su amistad.

**A JUAN J., MARCO, MIGUEL, JUAN M., PERLA, CLAUDIA, CECY Y LILI (L.M.N.M.)**

**G.L.C.V.**

## **DEDICATORIAS**

**A MIS PADRES:** Eleuterio García Ramos y Ma. del Carmen E. Hernández Bernal; por el cariño, confianza y todo lo que me han brindado.

**A MIS ABUELITOS:** Angel Hernández, Carmen Bernal, Elsa Ramos, Tío Pepe y Ma. Fina; por lo que significan para mí.

**A MI FAMILIA:** Por la ayuda que siempre me han otorgado.

**A LUIS ANTONIO Y LETY:** Porque son un pilar muy grande en mi formación.

**A LA UNAM:** Por la gran oportunidad que me ha dado.

Un diminuto instante inmenso en mi vivir.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
MATERIAL Y MÉTODOS.....	10
RESULTADOS.....	14
DISCUSIÓN.....	18
GRÁFICAS.....	21
CUADROS.....	23
LITERATURA CITADA.....	24

## RESUMEN

JORGE FABIAN GARCÍA HERNÁNDEZ: Evaluación clínica de la aplicación del factor de transferencia en perros afectados por el parvovirus canino tipo 2 (bajo la asesoría de MVZ Luis Antonio Calzada Nova y MVZ Angel Retana Reyes). Realizado en las instalaciones del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM y en una clínica veterinaria particular.

Hasta la fecha no existen fármacos que inactiven en forma efectiva a los parvovirus en el organismo canino, por lo tanto, se buscan nuevas alternativas terapéuticas que, como el factor de transferencia, pudieran ser utilizadas para disminuir la severidad de los cuadros clínicos producidos por la citada infección viral. El diseño del presente trabajo corresponde a un ensayo clínico de tipo observacional, longitudinal y prospectivo. Los criterios de inclusión que debieron cumplir los pacientes fueron los siguientes: 1) Tener de 8 a 16 semanas de edad, 2) cursar con una signología compatible con una infección con parvovirus canino tipo 2, 3) no tener más de 5 días de evolución de la enfermedad a partir del inicio de los signos prodrómicos, 4) cursar con leucopenia durante las siguientes 96 horas de haberse iniciado los signos prodrómicos y 5) demostrar la presencia de parvovirus canino tipo 2 utilizando la prueba de hemaglutinación en heces como método diagnóstico. Se estudió una población total de 40 perros afectados por el parvovirus canino tipo 2. Se dividió a la población total en dos grupos de 20 perros cada uno. Un grupo fue tratado con factor de transferencia utilizando como dosis 0.017 unidades de factor de transferencia por kilogramo de peso por vía subcutánea una vez cada 24 horas por 7 días. El otro grupo no recibió terapia con factor de transferencia. Ambos grupos fueron tratados con una terapia sintomática, la cual incluyó: terapia de líquidos y electrolitos, analgésicos, antibióticos y protectores gástricos. Los resultados muestran que aunque hubo un 15% de incremento de sobrevida en los pacientes tratados con factor de transferencia en relación con los pacientes a los que no se les aplicó este producto, mediante la prueba de  $\chi^2$  cuadrada resultó no significativo ( $p < 0.01$ ), por lo que se concluye que bajo el diseño del presente ensayo clínico, el factor de transferencia no incrementa la sobrevida de los pacientes con parvovirus en forma significativa.

## INTRODUCCIÓN

Dentro de los problemas más frecuentes que se presentan en la práctica diaria en el ejercicio de la clínica de pequeñas especies, son sin duda alguna, las enfermedades gastrointestinales, principalmente en la especie canina. Entre las etiologías de cuadros diarreicos, las infecciones virales son de gran relevancia. El más importante de todos los virus causantes de enteritis es el parvovirus canino tipo 2 (PVC-2), por su curso agudo y el alto índice de mortalidad<sup>46</sup>.

El PVC-2 pertenece a la familia *Parvoviridae*, es un virus pequeño, con un tamaño de 23 nm, no envuelto, de simetría icosaédrica, con una sola cadena de ADN y consta de tres polipéptidos estructurales, con pesos moleculares de 67000, 70000 y 85000, denominados VP67, VP70 y VP85 respectivamente. VP70 representa el 85% de las partículas protéicas virales, VP67 el 8% y VP85 el 7%. Estos polipéptidos corresponden a las regiones antigénicas virales y son los dominios y hemoaglutininas del PVC-2<sup>46,54,55</sup>.

Existen otros dos parvovirus caninos: los relacionados con adenovirus los cuales no son patógenos y los parvovirus caninos tipo 1 de los que se desconoce su patogenicidad<sup>46</sup>.

El PVC-2 es un nuevo patógeno canino. Estudios retrospectivos en todo el mundo no han detectado anticuerpos específicos en las muestras de suero que se obtuvieron antes de 1976<sup>52</sup>.



Es muy probable que el PVC-2 sea el resultado de una mutación del virus de la panteucopenia felina<sup>43</sup>. Se aisló por primera vez en 1978<sup>46</sup>. En 1979 se convierte en una pandemia y hasta junio de 1980 fue reportado en México<sup>64</sup>.

Después del año 1980, surgió un nuevo tipo antigénico parvoviral, denominado PVC-2b, que difiere de la cepa original, el cual presenta un período de incubación más corto, mayor virulencia, más alta eficacia en la capacidad de replicación y una mayor eliminación en heces de los perros enfermos<sup>44</sup>.

El PVC-2, tipos a y b, son muy resistentes al medio ambiente y pueden mantenerse infectantes por más de cinco meses en condiciones favorables<sup>16,17</sup>.

La infección por parvovirus presenta hasta un 50-75% de morbilidad y un 50% de mortalidad en animales susceptibles. El principal medio de transmisión es por exposición oronasal a partir de heces contaminadas<sup>46</sup>.

El parvovirus afecta en forma principal a perros jóvenes entre 6 y 18 semanas de edad y provoca principalmente una enteritis hemorrágica aguda<sup>46</sup>. Aunque se ha descrito que el PVC-2 también puede presentarse en otras formas clínicas tales como la forma generalizada que afecta a cachorros recién nacidos de 3 a 9 días de edad<sup>31</sup> y la forma miocárdica en individuos con una edad de 6 a 8 semanas<sup>32,36</sup>, dichas variantes de la enfermedad actualmente se consideran hallazgos raros.

El virus necesita para su replicación células con alto índice de nucleoproteínas, es por esto que el PVC-2 afecta a tejidos con alta tasa de mitosis tales como el epitelio entérico y tejidos linfoides y hematopoyéticos<sup>46</sup>.

En las primeras 48 horas postinoculación, el virus se replica en los tejidos linfoides de la orofaringe, ganglios linfáticos mesentéricos y timo, detectándose una viremia primaria asociada a células, en la cual se detecta la propagación de linfoblastos infectados hacia nuevos sitios de acúmulos linfoides<sup>16,37</sup>. A partir del tercer a cuarto día, existe una viremia de gran magnitud no asociada a células que induce a una extensa replicación viral en tejido linfoides intestinal, timo, bazo y ganglios linfáticos. En esta etapa empieza la eliminación del virus en heces<sup>35,37</sup>. Durante este período de la enfermedad, se pueden manifestar los signos prodromicos los cuales son: letargia, depresión, anorexia, adinamia, fiebre e hiperemia de tonsilas<sup>46</sup>. A partir del quinto día postinoculación, la patogenicidad del virus puede ocasionar depresión linfoides severa en bazo, ganglios linfáticos sistémicos y placas de Peyer, atrofia tímica, necrosis en criptas de Lieberkühn que producen enteritis ulcerativa<sup>37,38,60</sup>. La necrosis del epitelio germinal de las glándulas intestinales impide el recambio normal del epitelio, las vellosidades intestinales se aplanan, se fusionan y se cubren de epitelio inmaduro cuboide<sup>46</sup>. En los casos graves hay denudación completa de la lámina propia con hemorragia hacia el intestino<sup>5</sup>. En esta etapa se observa el pico de eliminación viral en heces<sup>4,38</sup>. Concurrente con el inicio del daño intestinal se presenta la infección de la médula ósea, lo que resulta en necrosis de las células madres mieloides y eritroides<sup>46</sup>. Los estadios endotoxémicos y la septicemia pueden contribuir en algún grado con estas lesiones medulares. La leucopenia en sangre periférica, refleja la destrucción en circulación y médula ósea. En los casos severos hay reducción progresiva de leucocitos circulantes entre los días 3 a 5 postinfección. El cambio más temprano es una linfopenia relativa debida a la linfocitosis que puede progresar a linfopenia absoluta. Al mismo tiempo puede ocurrir neutropenia acompañada de desviación a la izquierda y neutrófilos tóxicos<sup>35</sup>.

Todos estos acontecimientos en conjunto provocan un bloqueo en el sistema de Inmunidad celular inmediata, la lisis y la interrupción de la actividad mitogénica de los linfocitos, así como una inhibición en la producción de interleucinas, favoreciendo un estado de Inmunodeficiencia<sup>40</sup>. A partir del quinto día postinoculación se pueden observar los signos específicos de la enfermedad, los cuales incluyen: vómito, deshidratación, diarrea líquida hemorrágica, dolor abdominal y leucopenia<sup>46</sup>.

Hasta la fecha no existen fármacos que inactiven directamente al virus en el organismo en forma efectiva. Los inmunomoduladores pueden ser nuevas alternativas terapéuticas que pudieran ser usadas en forma profiláctica o como ayuda para disminuir la severidad del cuadro clínico<sup>57</sup>. Dentro de estas alternativas inmunomoduladoras se encuentra la llamada terapia biológica. Dadas las características del PVC-2 de deprimir al sistema Inmunológico del individuo afectado, esta terapia se vislumbra como una interesante opción para realizar trabajos de investigación en su entorno.

El principal objetivo de la terapia biológica es habilitar al sistema Inmunológico del individuo Inmunocomprometido favoreciendo así la capacidad de responder ante la enfermedad. Una respuesta Inmunológica se desencadena por la estimulación de células linfoides por parte de un antígeno<sup>11</sup>. El organismo ante tal estimulación puede reaccionar activando la síntesis de anticuerpos específicos contra el antígeno, desencadenando una respuesta de Inmunidad celular o ambos tipos de respuesta. La base de esta dualidad en el sistema Inmune, reside en la existencia de dos poblaciones diferentes de células linfoides: los linfocitos B que son la base de la Inmunidad de tipo humoral y los linfocitos T que tienen un papel fundamental en la Inmunidad de tipo celular<sup>11,58</sup>. La transferencia de Inmunidad tanto humoral como celular a individuos Inmunocomprometidos es algo que siempre ha interesado a los Inmunólogos, virólogos y clínicos.

En relación con la parvovirus canina se han realizado diversos estudios en los que se han utilizado sueros hiperinmunes<sup>1,10</sup>, soluciones concentradas de leucocitos<sup>9</sup> y gammaglobulina humana<sup>61</sup>, en los cuales los resultados han sido variables, sin embargo, la mayor parte de las veces han sido desalentadores.

Actualmente se sabe que existen dos grupos de linfocitos T cooperadores o helper (Th), los Th<sub>1</sub> y Th<sub>2</sub>. Los linfocitos Th<sub>1</sub> sintetizan interleucina 2, interferón y linfoxina, y estos regulan la respuesta inmunitaria a mediación celular y la hipersensibilidad de tipo retardada. Los linfocitos Th<sub>2</sub> producen interleucina 4, 5 y 6, su acción principal es regular las respuestas a mediación humoral. A este grupo de inmunomoduladores se les denomina citocinas. Con el desarrollo de las técnicas de recombinación de ADN, se ha hecho posible generar grandes cantidades de citocinas altamente purificadas in vitro. Sin embargo, solo han podido clonarse algunos genes de citocinas caninas<sup>67</sup>. La síntesis de citocinas es difícil por lo que su empleo en la práctica no ha podido establecerse.

La transferencia específica de inmunidad celular ha sido objeto de un gran número de investigaciones<sup>6,11,26</sup>. H. Sherwood Lawrence (1949) demostró que la hipersensibilidad cutánea hacia ciertos antígenos podía ser transferida en hombres por la inyección intradérmica de leucocitos viables de donadores con reactividad cutánea positiva a individuos receptores con reacción negativa a esos antígenos<sup>26</sup>. En una extensión de este trabajo el mismo Lawrence reportó en 1955 que tal transferencia de sensibilidad retardada podía lograrse con extractos dializados de leucocitos tan eficientemente como con leucocitos viables. A este material extraído de leucocitos capaz de transferir hipersensibilidad retardada a receptores no inmunes, se le nombró factor de transferencia (FT)<sup>27,28</sup>.

El extracto obtenido por el método de Lawrence contiene un mínimo de 200 partículas diferentes con pesos moleculares de 1000 a 20,000 daltons, y que solamente una de ellas, con un peso molecular 3500 daltons aproximadamente, es responsable de la principal acción antigénica específica del FT<sup>13</sup>. Basados en el método de obtención, algunos investigadores denominan al material resultante por el proceso de diálisis de células de la línea blanca sin purificar como extracto dializable de leucocitos (EDL)<sup>14</sup>.

El componente activo del FT está compuesto por pequeñas moléculas con un peso molecular de 2000 a 5000 daltons<sup>13,14,21,50</sup>, las cuales son obtenidas a partir de un proceso de lisis y diálisis de leucocitos (particularmente linfocitos T). Es una sustancia soluble, liofilizable y dializable, es positivo a la reacción de orcinol (específica para carbohidratos), resistente a DNAasa y RNAasa, resistente a tripsina, sensible a pronasa y nucleasa, estable por varios meses a temperatura de -20°C a -70°C liofilizado pero es inactivado a 56 °C<sup>14,29</sup>.

Se han logrado identificar algunos componentes del EDL como por ejemplo, la timosina<sup>51</sup> y las prostaglandinas<sup>65</sup>. Ciertos componentes del EDL poseen propiedades adyuvantes (con efectos de inmunestimulación no específicas a los antígenos), mientras que otros componentes son responsables de respuestas inmunosupresoras<sup>12</sup>.

Hoy en día existe gran discrepancia entre los científicos especializados en cuanto a la denominación del FT ya que algunos como Fudenberg, utilizan el término FT sólo aplicado a los componentes del EDL que tienen capacidad de regular las respuestas de linfocitos T contra un antígeno específico<sup>13</sup>. Mientras que otros como Kirkpatrick utilizan el término FT como sinónimo del EDL<sup>21,50</sup>.

Hasta la fecha no se ha logrado uniformar criterios a este respecto, por ello en el presente trabajo se denominará FT ya que en la mayoría de la literatura citada así lo denominan<sup>6,10,22,26,27,28,60</sup>.

Actualmente se desconoce la estructura exacta del FT, esto en parte es debido a la dificultad existente en la obtención de materiales suficientemente purificados que faciliten su análisis. Sin embargo, se han realizado diversos estudios para tratar de caracterizar la naturaleza molecular del compuesto<sup>14,22,50</sup>.

Se han propuesto algunos modelos en torno a su estructura: algunos trabajos clasifican al FT como nucleopéptidos, compuestos básicamente de aminoácidos y en los cuales no existe evidencia de la existencia de ácidos nucleicos<sup>22,50</sup>. No obstante, otros autores lo clasifican como oligoribonucleotidopéptidos que contienen bases de RNA (purina y pirimidina) unidos a pequeñas cadenas de aminoácidos o péptidos<sup>14,54</sup>.

Los efectos inmunológicos del FT son específicos para el o los antígenos a los que fue inmunizado el donador, por lo tanto, es probable que exista un único FT para cada tipo antigénico<sup>14,20,22,45,49</sup>. Existe la posibilidad que cada FT específico difiera estructuralmente de una manera similar a las sutiles variaciones ocurridas en los sitios de unión al antígeno en la región hipervariable (VH) de las inmunoglobulinas<sup>14</sup>.

Hay evidencia que cada FT contiene un mínimo de 6 aminoácidos según su composición y peso molecular<sup>13</sup>. Esto nos da una posibilidad de millones de variaciones en la estructura primaria, si se considera la probable combinación de los aminoácidos conocidos<sup>14</sup>.

Se sugiere que existen tres diferentes tipos de FT relacionados con la actividad del mismo, y cada uno tiene una función específica. Se han clasificado como FT precursor, FT secretorio y FT de membrana y cada uno difiere uno de otro por pequeños cambios estructurales en las terminaciones fosfato<sup>14,20,68</sup>. Existen evidencias que el FT no contiene los determinantes del antígeno mayor de histocompatibilidad, lo cual explica su falta de restricción para ser usado en diferentes especies y en animales alógenicos de la misma especie, lo cual le confiere la posibilidad de ser usado de manera homóloga o heteróloga<sup>30</sup>.

Se han realizado diversas hipótesis en las que se intenta explicar el proceso mediante el cual el linfocito T reconoce y responde a la estimulación producida por el FT. Sin embargo, el mecanismo exacto mediante el cual el FT participa en la respuesta inmunológica es todavía desconocida<sup>14</sup>. No obstante, el FT transfiere hipersensibilidad local y sistémica y no causa reacción incompatible aun entre diversas especies, transfiere rechazos de aloinjertos<sup>29</sup>, ejerce una acción directa sobre la producción de interleucina 1 y produce un incremento de la activación de macrófagos<sup>8</sup>, aumenta la síntesis de ADN de linfocitos<sup>69</sup>, promueve la quimiotaxis de monocitos y neutrófilos<sup>15</sup>, aumenta la actividad de células asesinas naturales (NK)<sup>26</sup>, acelera la formación de rosetas de células T<sup>24</sup>, induce la formación de poblaciones de linfocitos que reaccionan específicamente ante un antígeno<sup>24,33</sup>, expande la población de dichos linfocitos y proporciona al individuo receptor información para adquirir un estado de inmunidad celular<sup>24</sup>, incrementa la producción de linfocinas<sup>33</sup>, aumenta la citotoxicidad de células T contra antígenos tumorales<sup>3,29</sup> entre otros efectos.

La gran mayoría de los estudios realizados en torno al FT se han hecho en humanos, y se ha investigado en enfermedades tales como la tuberculosis<sup>26</sup>,

difteria<sup>28</sup>, coccidiosis<sup>49</sup>, escleroma respiratorio<sup>39</sup>, rinitis atrófica primaria<sup>39</sup>, candidiasis<sup>34</sup>, leishmaniasis<sup>7</sup>, entre otras. En medicina veterinaria se ha investigado poco a este respecto, sin embargo, hay estudios de la aplicación del FT en cerdos<sup>63,64</sup>, burros<sup>66</sup>, conejos, hamsters<sup>58</sup>, bovinos<sup>23,24</sup> mencionando algunas especies. En nuestro conocimiento, no se han reportado estudios en perros.

### **HIPÓTESIS**

**Hipotesis nula (Ho):** La aplicación del factor de transferencia en perros, incrementa la sobrevivencia de los individuos afectados por el PVC-2.

**Hipotesis alterna (Ha):** La aplicación del factor de transferencia en perros no incrementa la sobrevivencia de los individuos afectados por el PVC-2.

### **OBJETIVOS**

Evaluar la respuesta y sobrevivencia de los pacientes afectados con PVC-2 después de la aplicación seriada del factor de transferencia.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El diseño de este trabajo corresponde a un ensayo clínico de tipo observacional, longitudinal y prospectivo, el cual se llevó a cabo con pacientes de una clínica veterinaria privada. Para dicho ensayo se utilizaron 40 perros; 20 perros formaron el grupo con tratamiento (grupo A) y los otros 20 perros formaron el grupo control (grupo B). No fueron factores a considerar la raza, el sexo o la vacunación previa.



Para que un perro ingresara al ensayo clínico debió cumplir con los criterios de inclusión:

- 1) tener de 8 a 16 semanas de edad
- 2) cursar con una signología compatible con una infección por PVC-2
- 3) tener un máximo de cinco días de evolución, sin haber recibido atención médica
- 4) cursar con leucopenia durante las siguientes 96 horas de haberse iniciado los signos prodrómicos, determinándose por medio de un conteo leucocitario realizado con métodos manuales<sup>2</sup>
- 5) demostrar la presencia del PVC-2 mediante una prueba de hemoaglutinación (HA) a partir del muestreo de las heces del paciente. Se consideró positivo cuando el valor fue mayor de 1,280 unidades hemoaglutinantes (UHA)<sup>53</sup>.

Se consideraron los siguientes criterios de exclusión:

- 1) demostración de infestaciones parasitarias intestinales concurrentes al cuadro clínico de infección por PVC-2
- 2) presentar estado de deshidratación mayor al 10% o estado de choque
- 3) desnutrición previa al inicio de los signos prodrómicos.

Los animales permanecieron en jaulas a temperatura ambiente hasta el final de la evolución de la enfermedad. El tratamiento en primera instancia, incluyó una adecuada terapia de líquidos utilizando solución Hartman glucosada al 5% siguiendo la metodología sugerida por Raffe<sup>48</sup>. Se incluyó una terapia sintomática para lo cual se utilizaron analgésicos como meglumina de flunixin (1 mg/kg cada 24 horas máximo 5 días), antibióticos como gentamicina (4 mg/kg cada 24 horas) y amoxicilina (22 mg/kg cada 12 horas) e inhibidores de los receptores H<sub>2</sub> gástricos como la ranitidina (2 mg/kg cada 12 horas). La dosificación se realizó con base al peso del animal y la vía de administración según lo sugiere Papich<sup>41</sup>.

Se realizó examen coproparasitoscópico diariamente, durante la hospitalización del paciente, mediante las técnicas de frotis húmedo y flotación con solución salina saturada.

La elaboración y estandarización del FT se llevó a cabo en las instalaciones del departamento de Microbiología e inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, siguiendo el procedimiento que señala Estrada<sup>10</sup>.

La dosificación del FT se realizó utilizando una unidad de factor de transferencia (1UFT) como base (definida como el equivalente del extracto obtenido de  $5 \times 10^8$  leucocitos)<sup>10</sup>. Se aplicó 0.017 UFT por kilogramo de peso por vía subcutánea, una vez cada 24 horas por 7 días. La cantidad de FT a aplicar a cada paciente expresada en mililitros, se calculó con base a la dilución del FT siempre aplicando la dosis establecida.

Los donadores de sangre para la elaboración del FT fueron dos perros adultos de raza Rottweiler, los cuales fueron hiperinmunizados con tres vacunas de virus vivo atenuado de PVC-2, aplicadas 15, 10 y 5 días antes de la obtención de la muestra.

Se elaboró un registro de progreso de los pacientes cada 24 horas, que incluyó los siguientes datos: frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, tiempo de llenado capilar, temperatura, peso, pulso, apariencia de tonillas, depresión, letargia, adinamia, anorexia, conteo leucocitario, presencia y frecuencia de diarreas y vómitos, dolor abdominal, estado de hidratación y plan terapéutico a seguir.

Los criterios de eliminación durante el desarrollo de la investigación fueron los siguientes:

- 1) la interrupción de la estancia del paciente en hospitalización antes de la resolución de la enfermedad
- 2) cualquier alteración en el tratamiento con base a fármacos, frecuencias y dosis
- 3) falta de evaluación y registro del paciente.

La evaluación estadística de la información con respecto a la supervida y mortalidad de la población se realizó con base a la prueba de chi cuadrado<sup>62</sup>.

## RESULTADOS

Grupo A (grupo tratado con FT).

Este grupo fue conformado por 20 perros, de los cuales 12 (60%) fueron de raza Rottweiler, 3 (15%) Pastor Alemán, 1 (5%) Doberman, 1 (5%) Criollo, 1 (5%) Samoyedo, 1 (5%) Boxer y 1 (5%) Shar-pei (Cuadro I).

El 55% (11) de los perros fueron machos y el 45% (9) fueron hembras.

La edad de los pacientes fluctuó entre dos meses, a tres meses 15 días de edad, siendo el promedio 2 meses 22 días.

De acuerdo al diseño del presente ensayo clínico, en el grupo A se observó una sobrevivencia del 60% (12) y una mortalidad del 40% (8) de los perros en estudio (Gráfica I).

Los días de evolución de la enfermedad de los pacientes, desde el inicio de los signos prodrómicos hasta el ingreso del ensayo clínico osciló entre 1 a 3 días, siendo el promedio 1.8 días.

La evolución de la enfermedad en este grupo fluctuó de 3 a 14 días con un promedio de 7.95 días.

El número de dosis de FT administradas en promedio fue de 5.4 dosis. En los sobrevivientes el promedio observado fue de 6.3 dosis y en el resto se administró 3.1 dosis como promedio.

**Grupo B (grupo control).**

Este grupo fue integrado por 20 perros, de los cuales 9 (45%) fueron de la raza Rottweiler, 3 (15%) Pastor Alemán, 2 (10%) Maltés, 1 (5%) Pastor Belga, 2 (10%) Criollos, 1 (5%) Mastin, 1 (5%) Gran Danés y 1 (5%) Poodle (Cuadro I).

El 65% (13) de los pacientes fueron machos y el 35% (7) hembras.

El promedio de edad en esta población fue de 2 meses 21 días. Las edades de los perros estuvieron entre 2 y 4 meses.

Se observó un 45% (9) de sobrevida y un 55% (11) de mortalidad (Gráfica II).

Los días de evolución de la enfermedad desde el inicio de los signos prodrómicos hasta el ingreso al ensayo clínico fluctuó de 1 a 3 días, siendo el promedio de 1.8 días.

La evolución de la enfermedad de los pacientes fue desde 2 hasta 12 días siendo el promedio de 6.3 días.

Los resultados referentes a pacientes vivos y muertos de ambos grupos se sometieron a una evaluación estadística, la cual se realizó mediante la prueba de chi cuadrada<sup>63</sup>, y de la que el desarrollo es el siguiente:

**Hipótesis nula (H<sub>0</sub>):** La aplicación de la FT en perros, incrementa la sobrevida de los individuos afectados por PVC-2.

**Hipótesis alterna (Ha):** La aplicación del FT en perros, no incrementa la sobrevivencia de los individuos afectados por PVC-2.

**FRECUENCIAS OBSERVADAS:**

	VIVOS	MUERTOS	TOTAL
<b>Grupo A</b> (con FT)	12	8	20
<b>Grupo B</b> (sin FT)	9	11	20
<b>TOTAL</b>	21	19	40

**FRECUENCIAS ESPERADAS BAJO Ha:**

	VIVOS	MUERTOS	TOTAL
<b>Grupo A</b> (con FT)	10.5	9.5	20
<b>Grupo B</b> (sin FT)	10.5	9.5	20
<b>TOTAL</b>	21	19	40

**FÓRMULA**

$$\chi^2 = \sum \frac{(o - e)^2}{e}$$

$$\chi^2 = \frac{(12 - 10.5)^2}{10.5} + \frac{(9 - 10.5)^2}{10.5} + \frac{(8 - 9.5)^2}{9.5} + \frac{(11 - 9.5)^2}{9.5}$$

$$\chi^2 = \frac{(1.5)^2}{10.5} + \frac{(-1.5)^2}{10.5} + \frac{(-1.5)^2}{9.5} + \frac{(1.5)^2}{9.5}$$

$$\chi^2 = \frac{2.25}{10.5} + \frac{2.25}{10.5} + \frac{2.25}{9.5} + \frac{2.25}{9.5}$$

$$\chi^2 = 0.214 + 0.214 + 0.236 + 0.236$$

$$\chi^2 = 0.9$$

En donde:

$\chi^2$  = chi cuadrada

o = lo observado

e = lo esperado

### GRADOS DE LIBERTAD (V)

**Fórmula**

$$V = (h - 1) (k - 1)$$

$$V = (2 - 1) (2 - 1)$$

$$V = 1$$

Valor en tablas de  $\chi^2$  con un grado de libertad al 95% de certeza es 3.84 y al 99% de certeza es 6.64. Puesto que  $\chi^2$  es 0.9, se acepta  $H_0$ .

## DISCUSIÓN

Mediante la prueba de chi cuadrada, a la cual fueron sometidos los resultados referentes a la sobrevida y mortalidad de los grupos A y B, del presente ensayo clínico, se puede observar que no existe una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la sobrevida de los pacientes tratados con factor de transferencia y el grupo control; el 15% de incremento de sobrevida del grupo A en relación con el grupo B es explicable totalmente por azar y por lo tanto para este ensayo clínico, se concluye que la aplicación de FT en perros no incrementa la sobrevida de los individuos afectados con PVC-2.

Se debe tomar en cuenta que tal aseveración es válida para este trabajo, pero existen variables que con otros diseños, pudieran alterar los resultados. Un factor que podría modificar los resultados sería la dosificación del FT, ya que en este trabajo se evaluó la acción de una sola dosis aplicada en forma seriada, pero sería de mucho interés continuar con trabajos de investigación evaluando a pacientes afectados con PVC-2 y aplicando el FT a diferentes dosis y frecuencias.

El FT ha demostrado tener un alto índice de efectividad en diferentes enfermedades tanto humanas como animales<sup>10,19,24,68</sup>. En éste caso la aparente ineffectividad del FT en pacientes con parvovirus, puede deberse a que la enfermedad se presenta con un cuadro de desarrollo de tipo agudo y a la capacidad del virus de deprimir en forma rápida e importante al sistema inmunológico de los individuos afectados causando una leucopenia severa y destrucción de las células madres mieloides<sup>48</sup>. Estas características de la enfermedad pueden ser tan relevantes que no dan el tiempo necesario al organismo para responder a la estimulación producida por el FT, ya que, se menciona que los efectos inmunológicos inducidos por éste, se producen entre 24 y 48 horas después de su administración<sup>22</sup>. Por otra parte, aunado a que gran



parte de los efectos del FT están basados en la capacidad de respuesta y clonación de los leucocitos, al no haber el suficiente número celular circulante y medular debido al efecto citolítico del PVC-2, el organismo se muestra incapaz de responder adecuadamente al tratamiento, por lo tanto, los individuos afectados, aún con la aplicación del FT, no pueden instaurar una respuesta inmunológica lo suficientemente rápida para neutralizar la infección.

Referente a la raza de los pacientes integrantes del ensayo clínico, existió predominancia de la raza Rottweiler en proporciones semejantes en los dos grupos, esto tiende a homogenizar las variables entre ambos grupos y disminuye el descontrol de variables. Así mismo estos resultados apoyan a los referidos por algunos autores los cuales clasifican a los perros Rottweiler, como una de las razas con más susceptibilidad de adquirir enteritis por parvovirus<sup>16</sup>.

Se observó que en ambos grupos de estudio existió una ligera mayoría de pacientes machos en relación con las hembras; sin embargo, la diferencia entre ambos grupos en este ensayo clínico no es significativa. No obstante hay reportes que afirman que existe mayor susceptibilidad en machos que en hembras<sup>47</sup>. La relación existente entre ambos grupos con respecto a la edad promedio de los perros es casi idéntica, por lo tanto estas semejanzas referentes al sexo y a la edad entre los individuos de los grupos A y B, tienden a disminuir la heterogenicidad de las variables y poblaciones, incrementando así el control de variables.

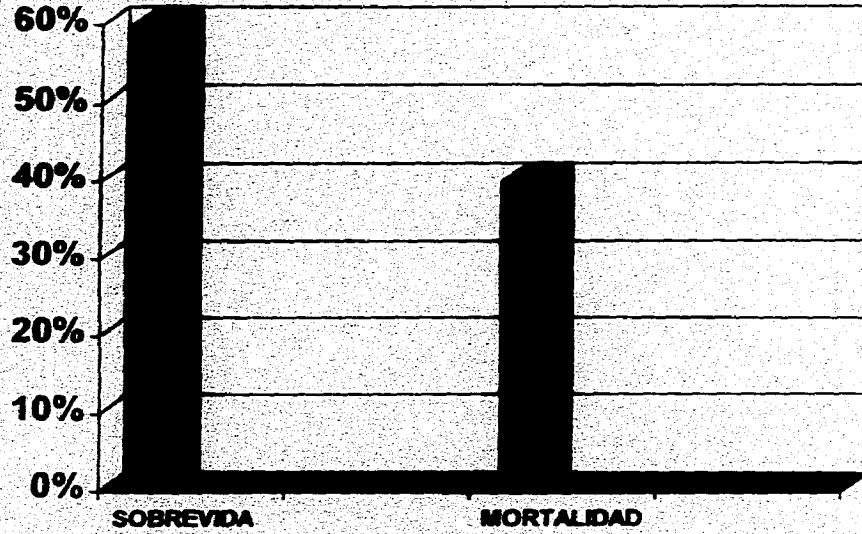
Realizando una comparación entre los grupos A y B en relación a los días transcurridos desde el inicio de los signos prodrómicos hasta el ingreso al ensayo clínico de los perros en estudio, se observó que ambos grupos evolucionaron en forma coincidente, con un promedio de tiempo exactamente igual. Por lo tanto, se puede asegurar que en términos de inicio de tratamiento hay un control absoluto de variables.

El presente trabajo se realizó bajo el diseño de un ensayo clínico y aunque por definición, posee algunas variables no controladas, éste es más apegado a la realidad clínica que el experimento.

Aunque se encuentran fuera de los objetivos del presente ensayo clínico, se apreciaron algunos hallazgos clínicos durante la evaluación de los pacientes afectados que pudieran ser de interés para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. Por ejemplo, se observó que el 92.5% de los pacientes infectados con PVC-2, presentaron hiperemia tonsilar principalmente en los estadios iniciales de la enfermedad. También se detectó que un número elevado de perros, principalmente de la raza Rottweiler, presentaron un cuadro de taquicardia superior a 200/minuto, en un lapso que comprende 15 minutos a dos horas antes de morir. Con respecto a las observaciones obtenidas a partir de los conteos leucocitarios realizados, se observó que el 100% de los perros afectados cursaron con leucopenia durante el transcurso de la enfermedad, el 80% cursó con el grado de leucopenia severa ( $< 3.5 \times 10^9/L$ ), la asociación de leucopenia severa y persistente (mayor a 48 horas) presenta un alto índice de mortalidad y las leucopenias transitorias (menores a 48 horas), aún cuando sean severas, se asocian con un alto índice de sobrevida superior al 80%.

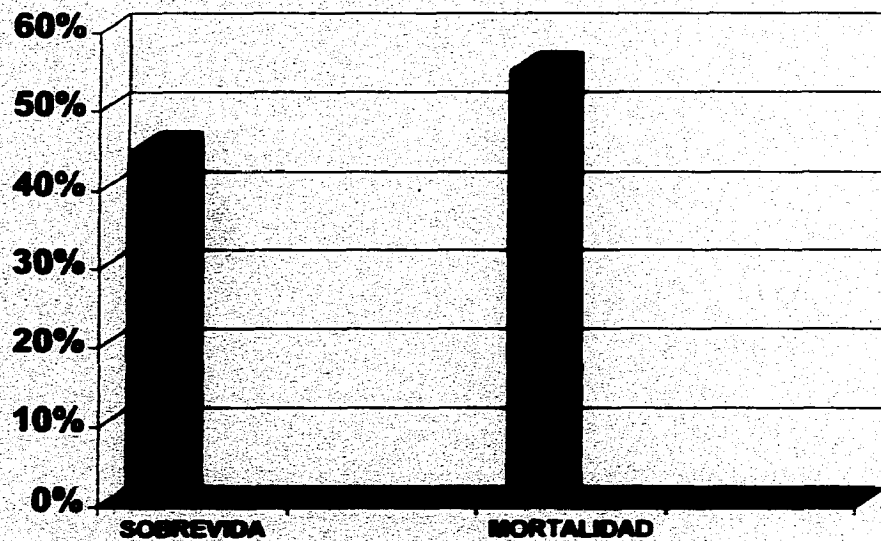
**Gráfica I**

**PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA Y MORTALIDAD EN EL GRUPO A**



## Gráfica II

### PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA Y MORTALIDAD EN EL GRUPO B



Cuadro I

## COMPARACIÓN ENTRE RAZAS DE AMBOS GRUPOS

RAZA	GRUPO A	GRUPO B
Rottweiler	12	9
Pastor Alemán	3	3
Criollo	1	2
Doberman	1	
Samoyedo	1	
Boxer	1	
Shar-pei	1	
Maltés		2
Gran Danés		1
Pastor Belga		1
Poodle		1
Mastín		1

## LITERATURA CITADA

1. Andersen V.: Practical experience of prophylaxis and treatment of canine parvovirus enteritis. *Praktische Tierarzt*, 62:1052-1058 (1981).
2. Benjamin M.: Manual de Patología Clínica en Veterinaria. *Noriega Limusa*, México, 1991.
3. Byers V., Levin A., Hackett A., and Fundenberg H.: Tumor specific cell mediated immunity in household contacts of cancer patients. *J. Clin. Invest.*, 55:500-513 (1975).
4. Carman P., and Povey R.: Pathogenesis of canine parvovirus-2 in dogs. Haematology, serology and virus recovery. *Vet. Science*, 38:134-150 (1985).
5. Carmichael L., Jorbert J. and Pollock R.: A modified live canine parvovirus strain with novel plaque characteristics I. Viral attenuation and dog response. *Conell Vet.*, 71:408-427 (1981).
6. Chase M.: The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 59:134 (1945).
7. Delgado O., Romano E., Belfort E., Pifano F., Scorza J. And Rojas Z.: Dialyzable leukocyte extract therapy in immunodepressed patient with cutaneous leishmaniasis. *Clin. Immunol.*, 19:351-389 (1981).
8. Dorfling P. And Schroder I.: Effect of the dializable leukocyte extract and its different fractions on the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and IL-1 by macophages, In: *Leukocyte Dialysates and Transfer Factor*, edited by: Mayer V., Borvak J. *Inst. Virol. Slovak Acad. Sci.*, 141-145 (1987).

9. Ejima H., Aimi K., Tagawa M., and Nakanishi A.: Leukocyte transfusion to puppies with canine parvovirus infection. *Bull. Nippon Vet. Zool. Coll.*, 32:103-107 (1983).
10. Estrada P., Velasco C., Reborá F., Díaz M. y Padierna J.: Inmunoterapia de la tuberculosis pulmonar avanzada con factor de transferencia específico. *Sal. Pub. Mex.*, 25:579-588 (1983).
11. Fundenberg, H., Stites D., Caldwell J. y Welis J.: Manual de Inmunología Clínica. *Manual Moderno*, México, D.F. 1980.
12. Fundenberg H., Wilson G., Goust J., Nekam K. and Smith C.: Dialyzable leukocyte extracts (transfer factor): a review of clinical results and immunological methods for donor selection, evaluation of activities, and patient monitoring. In *Thymus, Thymic Hormones and Lymphocytes*, edited by: Aiuti F., Wigzell H. *Proc. Sereno Symp.*, 38:391-421, London Academic (1980).
13. Fundenberg H. and Smith C.: Immunomodulation and immunotherapy: An overview of biologic and synthetic agents and their effects on the human immune system. *Riv. Immunol. Immunopharmacol.*, 1:3-11 (1982).
14. Fundenberg H. and Fudenberg H.: Transfer factor: past, present and future. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 29:475-516 (1989).
15. Gallin J. and Kirkpatrick C.: Chemotactic activity in dialyzable transfer factor. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71:498-502 (1974).
16. Glickman L., Domanski L. and Patronek G.: Breed-related risk factors for canine parvovirus enteritis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 187:589-594 (1985).

17. Gordon J. and Angrick E.: Canine parvovirus: Environmental effects on infectivity. *Am. J. Vet. Res.*, 47:1464-1467 (1986).
18. Haesebrouck F., Pensaert M. and Nelissen L.: Parvovirus infections in dogs: A field trial of serum prophylaxis in pups. *Veeams Dieggeneeskindig Tijdschrift*, 54: 104-107 (1985).
19. Khan A., Kirkpatrick C. and Hill N.: Immune regulators, in: Transfer factor. New York Academic, 1979.
20. Kirkpatrick C., Rozzo S., Mascali J. and Merryman C.: Murine transfer factor. Transfer of delayed hypersensitivity to synthetic antigens. *J. Immunol.*, 134:1723-1727 (1985).
21. Kirkpatrick C.: Biological response modifiers. Interferons, interleukins and transfer factor. *Annals of Allergy*, 62:170-176 (1989).
22. Kirkpatrick C.: Structural nature and functions of transfer factors. *Annals New York Academy of Sciences*, 362-368 (1989).
23. Klesius P. and Fundenberg H.: Bovine transfer factor: in vivo transfer of cell mediated immunity to cattle with alcohol precipitates. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 8:238-246 (1977).
24. Klesius P. and Kirkpatrick C.: Dialyzable leukocyte extract containing transfer factor, it's future in veterinary medicine. In: Immunobiol. of Transfer factor, Academic Press, 129-140 (1983).



25. Lang I., Nekam K., Gergely P. and Petrany G.: Effect of *in vivo* and *in vitro* treatment with dialyzable leukocyte extracts containing transfer factor activity on human natural killer cell activity. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 25:139-144 (1982).
26. Lawrence H.: The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin in man. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 71:516-522 (1949).
27. Lawrence H.: The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and to tuberculin with disrupted leucocytes. *J. Clin. Invest.*, 34:219-232 (1955).
28. Lawrence H. and Pappenheimer A.: Transfer of delayed hypersensitivity to diphtheria in man. *J. Exp. Med.*, 104:321-335 (1957).
29. Lawrence H.: Transfer Factor. *Adv. Immunol.*, 11:195-199 (1969).
30. Lawrence H., and Borkowsky W.: A new basis for the immunoregulatory activities of transfer factor an arcane dialect in the language of cell. *Cellular Immunology*, 82:102-116 (1983).
31. Lenghaus C., and Studdert M.: Generalized parvovirus disease in neonatal pups. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 181: 41-45 (1982).
32. Lenghaus C., and Studdert M.: Acute and chronic viral myocarditis. *Am. J. Pathol.*, 115: 316-319 (1984).

33. Levin A., Spittler L., Site D. and Funderberg H.: Wiskott-Alderich Syndrome, a genetically determined cellular immunologic deficiency: Clinical and laboratory responses to therapy with transfer factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 67:821-828 (1970).
34. Littman B., Rocklin R., Parkman R., and David J.: Transfer factor treatment of chronic mucocutaneous candidiasis: Requirement for donor reactivity to candida antigen. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 9:97-110 (1978).
35. McCartney L., McCandlish I., and Thompson H.: Canine parvovirus enteritis 1: Clinical, haematological and pathological features of experimental infection. *Vet. Rec.*, 115:201-210 (1984).
36. Meunier P., Cooper B. and Appel M.: Experimental viral myocarditis: Parvoviral infection of neonatal pups. *Vet. Pathol.*, 21:509-515 (1984).
37. Meunier P., Cooper B. and Appel M.: Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: The importance of viraemia. *Vet. Pathol.*, 22:60-71 (1985).
38. Meunier P., Cooper B. and Appel M.: Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: Sequential virus distribution and passive immunization studies. *Vet. Pathol.*, 22:617-624 (1985).
39. Missens B., Vasquez R. y Soda A.: Tratamiento de escleroma respiratorio y rinitis atrófica primaria con factor de transferencia. *Rev. Inst. Enf. Resp. Mex.*, 5:123-129 (1992).

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

40. Olsen C., Stiff, and Olsen R.: Comparison of the blastogenic response of peripheral blood lymphocytes from canine parvovirus: positive and negative outbred dogs. *Vet. Immunology and Immuno. Pathol.*, 6: 285-290 (1984).
41. Papich M.: Cuadro de fármacos comunes y su dosificación aproximada, en: *Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales XI*. Editado por Kirk R. and Bonagura J. *Interamericana Mc Graw-Hill*, Madrid, 1994.
42. Paradiso P., Rhade S. and Singer I.: Canine Parvovirus: A biochemical and ultrastructural characterization. *Journal of General Virology*, 62:113-125 (1982).
43. Parrish C., and Carmichael L.: Antigenic structure and variation of canine parvovirus type-2, feline panleukopenia virus and mink enteritis virus. *Virology*, 129: 401-414 (1983).
44. Parrish C., O'Connell P. and Everman J.: Natural variation of canine parvovirus. *Science*, 230:1048-1048 (1985).
45. Petersen E., Greenberg L., Manzara T. and Kirkpatrick C.: Murine transfer factor. Description of the model and evidence for specificity. *J. Immunol.* 126:2480-2484 (1981).
46. Pollock, R. and Carmichael L.: Canine viral enteritis. In *Infections Diseases of the Dog and Cat*. Edited by: Greene C., *W.B. Saunders*, Philadelphia, 1990.
47. Prange, H., Schneider E., Schinne E., Ziegler M. and Grass M.: Clinical aspects of parvovirus enteritis in dogs. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 37:453-459 (1982).

48. Raffe M.: Fluidoterapia en el paciente quirúrgico, en : Texto de Cirugía de los Pequeños Animales, Vol. 1. Editado por: Statter, W.B. Saunders, Philadelphia, 1989.
49. Rapaport F., Millar J., Pappangians D. and Smith E.: Transfer of delayed hypersensitivity to coccidioidin in man. *J. Immunol.*, 84:358-367 (1960).
50. Rozzo S. and Kirkpatrick C.: Purification of transfer factors. *Molecular Immunology*, 29:167-182 (1992).
51. Sargent I., Myer R. and Valdimarsson H.: Effects of transfer factor (TF) and thymosin on the recovery of E-Rosetting capacity in tripinised lymphocytes In: Immune Regulators in Transfer Factor. Edited by: Khan A., Kirkpatrick C. and Hill N. New York Academic, 1979.
52. Schwens A., Pastoret P. and Burtonboy G.: Frequence en Belgique de l'infection a parvovirus chez le chien, avant et après l'observation des premiers cas cliniques. *Ann. Med. Vet.*, 123:561-586 (1979).
53. Soto P., Palacios A. y Del Toro E.: Prueba de hemaglutinación en heces como diagnóstico de infección por parvovirus canino. *Bioteff*, México, D.F., 1992.
54. Stephano, A.: Brote de enteritis viral canina en México debido a la infección por parvovirus. *Veterinaria México*, 11:141-148 (1980).
55. Surleraux M., Bodeus M. and Burtonboy G.: Study of canine parvovirus polypeptides by immunoblot analysis. *Arch. Viral.*, 95:271-281 (1987).

56. Tizard I.: Inmunología clínica. *Interamericana*, México, D.F., 1995.
57. Tompkins M. y Tompkins A.: Citocinas inmunorreguladoras y su potencial terapéutico, En: *Terapéutica Veterinaria en Pequeños Animales XI*. Editado por: Kirk R. y Bonagura J. *Interamericana*, Madrid, 1994.
58. Tsang K., Fundeberg H. and Pan F.: Transfer of osteosarcoma specific cell-mediated immunity in hamsters by rabbit dialyzable leukocyte extracts. *Cell. Immunol.*, 90:295-302 (1985).
59. Votila A., Krohn K., Marnela K. and Antonen J.: Mechanism of the *in vitro* augmentation of lymphocyte transformation by transfer factor and by other cellular dialysates in: *Immunobiology of Transfer Factor*. Edited by: Kirkpatrick H., Lawrence D. And Burger D. *New York Academic* 1983.
60. Watanabe K., Ichijo S. Goto H. and Sarashina T.: Clinical haematological features of experimental infection. *Vet. Rec.*, 115:201-210 (1982).
61. Wawrzkiwicz J., Domanski G. and Michalski J.: Treatment of infections gastroenteritis in dogs cause by parvovirus. *Medycina Weterynaryjna*, 41:474-477 (1985).
62. Wayne W.: *Bioestadística*. *Limusa*, México, 1980.
63. Welch T., Triglia R., Spitzer L. and Fundenberg H.: Preliminary studies on human "Transfer Factor" activity in guinea pigs: systemic transfer of cutaneous delayed-type hypersensitivity to PPD and SKSD. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 5:407-415 (1976)

64. Wilson G., Welch T. and Fundenberg H.: Human transfer factor in guinea pigs: Partial purification of the active component. In: *Transfer Factor: Basic properties and clinical applications*. Edited by: Ascher M., Gottlieb C. and Kirkpatrick C., *New York Academic*, 1976.
65. Wilson G., Jonsson H., Halushka P., and Garner B. and Berkaw M.: Contribution of prostaglandins to the biological activity of dialyzable leukocyte extracts containing transfer factor activity. In: *Immune Regulators in transfer factor*. Edited by: Khan A., Kirkpatrick C. and Hill N., *New York Academic* 1979.
66. Wilson G., Paddock G., and Fundenberg H.: Effects of dialyzable leukocyte extracts with transfer factor activity on leukocyte migration *in vitro*. V. antigen specific lymphocyte responsiveness can be initiated by two structurally distinct polyribonucleotides. *Thymus*, 2:257-276 (1981).
67. Wilson G., Paddock G., and Fundenberg H.: Bovine "transfer factor" on oliguribonucleopeptide wich initiates antigen-specific lymphocyte responsiveness. *Thymus*, 4:335-350 (1982).
68. Wilson G., Morin M. and Stewart L.: Transfer of cell-mediated immunity *in vitro* to human linfocytes using dialyzable leukocyte extract from immune burros. In: Fundenberg H., Wilson G., and Keller R.: *Clinical applications of the leukocyte migration inhibition assay-new methods for determine transfer factor potency and for predicting clinical response*, *Immunobiol. of Transfer factor*. Edited by: Kirkpatrick C., Lawrence H. and Burger D., *New York Academic*, 1983.