

11621
2



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES-CUAUTITLAN

INMUNOLOGIA VETERINARIA APLICADA
RESPUESTA INMUNE CONTRA MOQUILLO

TRABAJO DE SEMINARIO:

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

ROSA MARIA ACEVEDO GUZMAN

ASESOR: Dr. ANDRES ROMERO ROJAS

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO 2003

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1



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).

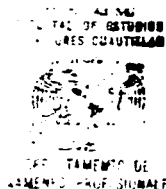
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



SERVICIO NACIONAL
DE SALUD
MEXICO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN Q Ma. del Carmen Garcia Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlan

Con base en el art. 51 del Reglamento de Exámenes Profesionales de la FES-Cuautitlan, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de Seminario
"Inmunologia Veterinaria Aplicada." "Respuesta Inmune contra Moquillo"

que presenta la pasante Rosa Maria Acevedo Guzman
con número de cuenta: 9556176-1 para obtener el título de
Medica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VISTO BUENO

AT E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlan Izcalli, Méx. a 6 de octubre de 2003

MODULO	PROFESOR
<u>I</u>	<u>DR. Andres Romero Rojas</u>
<u>II</u>	<u>DR. Luis Ramón Nolasco Espinosa</u>
<u>III</u>	<u>M.V.Z Alejandro Sanchez Pacheco</u>

FIRMA

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Porque en mis horas de felicidad y dolor siempre a mi lado esta para mostrarme su amor.

A MIS PADRES:

GEMINIANO

Por que para el, lo más importante son sus hijos y siempre nos incito a superarnos y a luchar por algo más, apoyándonos , orientándonos. Gracias por una vida de esfuerzos y sacrificios pero siempre con mucho cariño y apoyo cuando más lo necesitamos.

ROSALBA

Por tu amistad, por todo tu amor ,tu apoyo, comprensión y fortaleza que siempre nos brindas ante nuestros triunfos y derrotas. Gracias a tus consejos he realizado mis metas las cuales constituyen la herencia más valiosa que pudiera recibir para continuar con mi superación.

A MI HERMANO:

ROMAN

Por que con sus sueños impulsa a la familia a continuar luchando y apoyándonos para lograr todo lo que nos hemos propuesto. Tu has sido mi ejemplo a seguir y estoy muy orgullosa de lo que he logrado gracias a ti.

A MI HERMANA:

IVONNE

Por que sus locuras y desplantes han cambiado el rumbo de nuestra familia por que nos ha hecho abrirnos a nuestras emociones y nos ha enseñado ha pelear por las cosas que queremos .

A MI TIO:

SABAS

Por ser una de las personas más importantes de mi vida por que siempre estuvo con nosotros viéndonos crecer y superarnos dándonos consejos, enseñándonos a esforzarnos día con día. Por que nos mostró ha reír y a levantarnos cuando los problemas nos agobian.

Gracias a mis amigochas y amigochos por siempre estar conmigo en mis alegrías y en mis tristezas apodándome siempre para ser una mejor persona.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE

	Pagina
ii. Lista de figura	1
iii. Lista de Abreviaturas	2
iv. Resumen	3
1. Introducción	4
2. Antecedentes	6
2.1. Historia	6
2.2. Clasificación y morfología	8
3. Epidemiología	10
4. Patogenia	11
4.1. Transmisión	13
5. Signos generales	15
5.1. Signos neurológicos	17
5.2. Signos neonatales	21
5.3. Lesiones óseas	21
5.4. Artritis reumatoide	22
5.5. Signos oculares	22
6. Diagnóstico	23
6.1. Laboratorio clínico	24
6.2. Radiología	25
6.3. Líquido cefalorraquídeo	25
6.4. Inmunocitología	27

TESIS CON
FALLA DE OPIGEN

6.5 Pruebas inmunológicas	28
6.6 Aislamiento viral	30
6.7 Datos histopatológicos	31
7. Terapéutica	32
8. Prevención	35
8.1 Complicaciones posvacunales	39
8.2 Interferencia de la vacuna	39
8.3 Vacunaciones para sarampión	40
9. Control ambiental	41
10. Salud Pública	41
11. Respuesta inmune contra moquillo	43
12. Conclusiones	55
13. Bibliografía	56

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema que representa la estructura del virus.

Figura 2. Dibujo de la patogenia de Moquillo Canino.

Figura 3. Diagrama de flujo que muestra las etapas más importantes de la patogenia del Virus de Moquillo Canino.

Figura 4. Perro con secreción nasal y conjuntivitis.

Figura 5. Antígeno viral (verde) en linfonodo mediastínico. Prueba de inmunofluorescencia.

Figura 6. Antígeno viral (verde) en la capa granular de cerebelo de perro con encefalitis. Prueba de inmunofluorescencia.

Figura 7. Antígeno viral (amarillo-verde) en lámina propia de duodeno. Prueba de inmunofluorescencia.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ABREVIATURAS

C	Proteína no Estructural.
CAV-1	Adenovirus 1.
CAV-2	Adenovirus 2.
CDE	Meningoencefalitis del distemper crónico.
DMV	Moquillo del delfín
DEL	Distemper desmielizante crónico
EM	Esclerosis múltiple.
EMV	Morbilivirus equino
F	Proteína de fusión.
FC	Fijación de complemento.
FT	Factor de Transferencia.
H	Glicoproteína de atadura de hemaglutinina.
ICML	Inmunidad celular mediada por linfocitos.
IM	Intramuscular.
L	Proteína mayor.
LCR	Líquido cefalorraquídeo.
M	Proteína de la matriz.
Mabs	Anticuerpos monoclonales.
MC	Moquillo canino.
MHC-II	Complejo Principal de histocompatibilidad.
N	Nucleocápside.
NV	Neutralización viral.
ODE	Encefalitis del perro viejo.
ODH	Osteodistrofia hipertrófica.
P	Fosfoproteína.
PDV	Moquillo focino.
PESA	Panencefalitis esclerosante subaguda.
PI	Post-infección
p.i	post-inoculación.
PMV	Moquillo de la marsopa.
PPRV	Peste de pequeños rumiantes.
ROS	Radicales oxígeno reactivo.
RPV	Peste bovina
RT-PCR	Reacción transcriptasa en cadena.
SC	Subcutáneo.
SNC	Sistema Nervioso Central.
SSPE	Panencefalitis esclerosante agudo.
VMC	Virus de moquillo canino.
VS	Virus del sarampión.
VVM	Virus vivo modificado

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

El Moquillo Canino, esta considerado como una de las enfermedades infecciosas más importantes en los perros. Es una enfermedad producida por un virus de la familia *Paramixoviridae* del género *Morbilivirus*. Esta relacionado antigénicamente con los virus de sarampión humano, peste bovina y distemper de focas y delfines. Esta enfermedad afecta a canidos, procióndos, mustélidos, vivérridos y pinnípedos, a partir de los 90s Felinos exóticos. El moquillo se ha diagnosticado en todo el mundo, incluyendo México en donde se considera una enfermedad enzoótica que afecta a perros jóvenes de 3-6 meses de edad.

Debido al amplio rango de especies infectadas y a la gravedad del daño de la enfermedad los estudios han sido numerosos enfocándose a la respuesta inmune contra el virus.

El virus del moquillo puede persistir en el organismo de por vida, venciendo la resistencia del hospedero al evadir y trastornar los mecanismos de defensa antivirales. La persistencia esta asociada de manera cercana a la virulencia. La proteína de la nucleocápside (N) es importante para que el virus persista ya que cumple funciones reguladoras en la transcripción y la replicación e influye en el ensamblaje del virus.

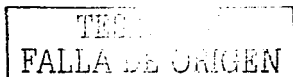
La proteína M importante para la maduración del virus, está bajo la bicapa lipídica y sirve como enlace entre la nucleocápside y las glicoproteínas de superficie F y H. Estos dos antígenos de superficie y protectores virales. La proteína F facilita la diseminación del virus entre las células y la H, con actividad neuramidasa es importante para la liberación de las partículas virales de las células. Se sabe que la glicoproteína H tiene una interacción específica de especie con el receptor celular y es responsable del tropismo selectivo del virus.

La respuesta inmune en perros después de infección con VMC virulento depende de la cepa del virus y el hospedero. La infección de VMC en perros, generalmente causada por inhalación de aerosoles, puede llevar a la enfermedad sistémica con inmunosupresión severa ya que el virus se replica en macrófagos del tracto respiratorio y tejidos linfoides.

Durante la fase temprana los perros están casi siempre linfopénicos e inmunosuprimidos. El vaciamiento de linfocitos y necrosis de tejidos linfáticos parece ser un efecto directo de la infección con VMC. Los cambios macroscópicos y microscópicos de los tejidos linfoides inducidos por VMC incluyen atrofia de timo, vaciamiento de áreas de células T y B con pérdida de folículos secundarios, hiperplasia de células reticulares, necrosis folicular, formación de células gigantes, y cuerpos de inclusión intracitoplásmaticos en células reticulares y linfáticas.

Los estudios experimentales indicaron que estas alteraciones morfológicas en tejido linfoide son reversibles en un animal que se recupera de la infección leve.

Los perros que se recuperan rápido tienen una respuesta humoral vigorosa y reacciones inmunes celulares. Los anticuerpos neutralizantes aparecen entre 10-20 post-infección (P.I) y alcanzan pronto niveles máximo



La proteína M₁ es importante para la maduración del virus, esta bajo la bicapa lipida y sirve como enlace entre la nucleocápside y las glicoproteínas de superficie F y H. Estas dos son antígenos de superficie y protectores virales. La proteína F facilita la diseminación del virus entre las células, y la proteína H, con actividad de neuramidasa, es importante para la liberación de partículas virales de las células. Se sabe que la proteína H tiene una interacción específica de especie con el receptor celular y que es responsable del tropismo selectivo del virus.^{12, 231, 36}

Los morbillivirus poseen dos proteínas que facilitan la unión a las membranas del hospedero, la hemaglutinina y la proteína F. El factor F media la fusión de la envoltura viral con la membrana celular y ayuda en la unión viral.

También causa fusión de la célula del hospedero y es responsable para la formación de sincitios de células. La habilidad de unirse a células del hospedero le permite al virus expandirse sin exponerse a los anticuerpos. Para ser biológicamente activo, la proteína F debe ser dividida por una proteasa del hospedero en dos polipéptidos unidos por puentes-disulfuro, F1 y F2. Si a una célula del hospedero le falta la proteasa necesaria, el virus formado no es infeccioso, el factor F se requiere para la fijación viral.^{11, 19}

TESIS DE
FALLA DE ORIGEN

I.INTRODUCCIÓN

La frecuencia, la distribución , y el daño ocasionado por el virus del moquillo canino son los elementos que nos llevan aun estudio más detallado sobre la respuesta inmune del huésped hacia el virus y el por que a veces es capaz de evadir dicha respuesta.

El virus del moquillo canino (VMC) pertenece al orden de los mononegavirus, es un miembro del género Morbillivirus dentro de la familia Paramixoviridae como la que incluye otros como: el virus de moquillo focino (PDV), el moquillo del delfín (DMV), la peste bovina (RPV), el virus de la peste de los pequeños ruminantes (PPRV), el moquillo de la marsopa (PMV),moquillo equino (EMV) y el virus del sarampión (MV). El VMC tiene una forma esférica, es relativamente grande (150-250nm) con RNA de filamento único, con sentido negativo envuelto, el virus tiene simetría helicoidal. ^{2, 5, 8, 9, 13, 25, 29, 31, 34, 39, 46}

El RNA del paramyxovirus, se liga herméticamente a la proteína de la nucleocápside (NP), con una lipoproteica estructural larga, en forma de nucleocápside helicoidal. Esta rodeado por una envoltura de lipoproteínas y glucoproteínas del virus incorporadas en la membrana celular. ^{12, 43} El genoma consiste en 15,690 nucleótidos que forman seis genes que codifican las proteínas insertadas en la membrana celular durante la replicación viral. ⁴³ El virión contiene 7 polipéptidos que son similares a los de los otros virus, lo cual propicia cierta inmunidad cruzada. Esta formado por una proteína no estructural (C) y seis proteínas estructurales: proteína de la nucleocápside (N) , la proteína de la matriz (M), la proteína de fusión (F), fosfoproteína (P), la glicoproteína de atadura de hemaglutinina (H) y la proteína mayor (L). ^{2, 5, 7, 12, 39, 43, 49}

En la actualidad la enfermedad se encuentra difundida por todo el mundo ocasionando numerosas bajas en las diferentes explotaciones ya que el virus afecta a la familia Canidae (perro, lobo, zorro, coyote, chacal), la familia de los Mustelidae (hurón, mink, comadreja, marta, zorrillo, tejón, nutrias), la familia Procyonidae (mapache, panda, kinkajou, coati) y menos frecuente la familia Felidae pero no gatos domésticos.

TESIS DE
FALLA DE ORIGEN

2. ANTECEDENTES

El moquillo canino recibe diferentes denominaciones tales como: Enfermedad de carré, Distemper canino, Encefalitis del perro viejo. Sin embargo los nombres de la enfermedad también varían de acuerdo al idioma así tenemos Moquillo canino (español), Canine Distemper (inglés), Maladie de Carré (francés), Hundestaupe (alemán), Cimurro (italiano) y Esgaña (portugués).

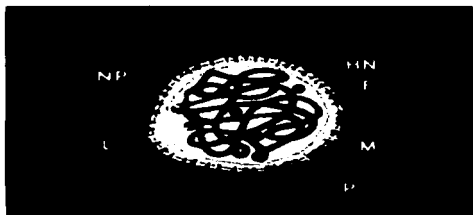
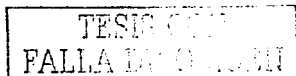


Figura 1. Esquema que representa la estructura del virus de moquillo canino (VMC).

2.1. HISTORIA

Los primeros datos sobre la presentación de moquillo canino en Europa proceden de la segunda mitad del siglo XVIII. En España (1761), es mencionada por Gonzalo Argote de Molino, quien la consideraba como una importación hacia Europa, desde América del Sur.²⁵



Posteriormente en Inglaterra (1839), Jenner (1809) hizo la primera descripción de la enfermedad. En 1905 Carré demostró la naturaleza vírica del agente productor del moquillo y, demostró por primera vez la fase de viremia durante el periodo febril, mediante la inoculación de sangre de animales enfermos en animales susceptibles. Más tarde, Puntoni (1923) mencionó el modo de luchar contra esta afección mediante la inoculación preventiva. Esto mismo fue señalado posteriormente por Laidlaw y Dunkin (1926 -1931), confirmando además que la enfermedad era producida por un virus y mostraron que una pequeña cantidad (0.02 ml) de sangre de animales enfermos era suficientemente infectiva para hurones. ^{50,25}

A partir de 1969 se han realizado numerosos trabajos entre los que figuran los de Liu y Coffin (1957), quienes estudiaron la patogenia de la infección en hurones y encontraron un antígeno viral en leucocitos por medio de inmunofluorescencia, 4 días después de la infección. Rockborn y Cornwell (1960-1965) examinaron sangre de perros enfermos de moquillo, concluyendo que la viremia observada era exclusivamente asociada a la infección de leucocitos. Consecuentemente el método de inmunofluorescencia en leucocitos fue empleado para demostrar la viremia de la enfermedad. ^{5,25}

En 1975 Backman y colaboradores comenzaron a estudiar la relación existente entre los polipéptidos del virus de Moquillo canino (VMC) y los polipéptidos de otros virus de la misma familia como son el virus del sarampión (VS) y el morbilivirus bovino, mientras que Kingsburg y colaboradores en el año de 1976 clasificaron al virus de moquillo canino. ²⁵

Por otro lado en 1976 Earlier estudió la composición polipeptídica del VMC, que sugería ser similar a la de otros virus, trabajo que fue continuación del estudio realizado por Waters y Busell en el año de 1973, en el que reportaron 7 polipéptidos estructurales del



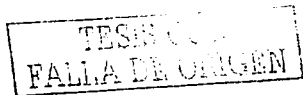
virión con sus respectivos pesos moleculares. Graves y colaboradores (1978) les asignaron diversas letras de acuerdo a sus pesos moleculares.

Summers y colaboradores (1984) presentaron evidencia convincente de que los leucocitos infectados por el virus, representan la mayor forma de diseminación del VMC hacia el encéfalo. ^{5,13,25}

2.2. CLASIFICACION Y MORFOLOGÍA

El virus del moquillo canino (VMC) pertenece al orden de los mononegavirus, es un miembro del género Morbillivirus dentro de la familia Paramixoviridae como la que incluye otros como: el virus de moquillo focino (PDV), el moquillo del delfín (DMV), la peste bovina (RPV), el virus de la peste de los pequeños rumiantes (PPRV), el moquillo de la marsopa (PMV), moquillo equino (EMV) y el virus del sarampión (MV). El VMC tiene una forma esférica, es relativamente grande (150-250nm) con RNA de filamento único, con sentido negativo envuelto, el virus tiene simetría helicoidal. ^{2, 5 & 9, 13, 25, 29, 31, 34, 39, 46}

El RNA del paramyxovirus, se liga herméticamente a la proteína de la nucleocápside (NP), con una lipoproteica estructural larga, en forma de nucleocápside helicoidal. Esta rodeado por una envoltura de lipoproteínas y glucoproteínas del virus incorporadas en la membrana celular. ^{12,43} El genoma consiste en 15,690 nucleótidos que forman seis genes que codifican las proteínas insertadas en la membrana celular durante la replicación viral. ⁴³ El virión contiene 7 polipéptidos que son similares a los de los otros virus, lo cual propicia cierta inmunidad cruzada. Esta formado por una proteína no estructural (C) y seis proteínas estructurales: proteína de la nucleocápside (N), la



proteína de la matriz (M), la proteína de fusión (F), fosfoproteína (P), la glicoproteína de atadura de hemaglutinina (H) y la proteína mayor (L).^{2, 5, 7, 12, 30, 43, 49}

La proteína M, es importante para la maduración del virus, esta bajo la bicapa lipida y sirve como enlace entre la nucleocápside y las glicoproteínas de superficie F y H. Estas dos últimos son antígenos de superficie y protectores virales. La proteína F facilita la diseminación del virus entre las células, y la proteína H, con actividad de neuramidasa, es importante para la liberación de partículas virales de las células. Se sabe que la proteína H tiene una interacción específica de especie con el receptor celular y que es responsable del tropismo selectivo del virus.^{12, 231, 38}

Los morbillivirus poseen dos proteínas que facilitan la unión a las membranas del hospedero, la hemaglutinina y la proteína F. El factor F media la fusión de la envoltura viral con la membrana celular y ayuda en la unión viral.

También causa fusión de la célula del hospedero y es responsable para la formación de sincitios de células. La habilidad de unirse a células del hospedero le permite al virus expandirse sin exponerse a los anticuerpos. Para ser biológicamente activo, la proteína F debe ser dividida por una proteasa del hospedero en dos polipéptidos unidos por puentes disulfuro, F1 y F2. Si a una célula del hospedero le falta la proteasa necesaria, el virus formado no es infeccioso, el factor F se requiere para la fijación viral.^{11, 19}

TESIS CON
FALLA EN CANCELACION

3. EPIDEMIOLOGIA

El índice de prevalencia de moquillo espontáneo en perros cosmopolitas es mayor entre los tres y seis meses de edad y se relaciona con la pérdida de anticuerpos maternos en cachorros después del destete, en contraste, en las poblaciones aisladas de perros susceptibles, la enfermedad es grave, diseminada y afecta a todas las edades.

El límite de huéspedes incluye perros domésticos y muchos carnívoros salvajes incluyendo : familia *Canidae* (zorros, dingo, coyote, lobo, chacal), así como los de la familia *Mustelidae* (hurón, mink, comadreja, marta, zorrillo, tejón , nutrias ,mofetas) familia *Procyonidae*: (mapache, panda rojo, kikapou, coatí), *Viverridae* (civeta, mangosta, linsanca) , y *Pinnipedia* (león marino y foca).^{2, 4, 5, 18, 23, 35, 41, 44, 50} Se ha informado que las hienas también son susceptibles.^{2, 9, 12, 13}

Ocurrió una infección del Virus de moquillo canino (VMC) en felinos en cautiverio leopardos (*Panthera pardus*), tigres (*Panthera tigris*), leones (*Panthera leo*), y jaguares (*Panthera onca*), en 1991 y 1992, en la fauna de San Fernando, California. En leones en Tanzania en 1994 se encontró que son susceptibles a la infección por VMC fue aislado de los cerebros de pecaríes de collar (*Tayassu tajacu*) en Arizona en 1989.^{4, 35}

En el Serengeti se reportó en 1994 la muerte de leones al parecer por un virus del moquillo canino (VMC) variante proveniente de los perros domésticos. Los investigadores proponen que el virus entró en el parque, quizás vía los chacales y las hienas manchadas que frecuentemente recogen la basura de asentamientos humanos cercanos. Normalmente se piensa que los gatos no son susceptibles al VMC. Al parecer esta variante cambió su rango del hospedador y tropismo. Otras variantes de VMC también se han identificado que infectan delfines, caballos, y focas.³

4. PATOGENIA

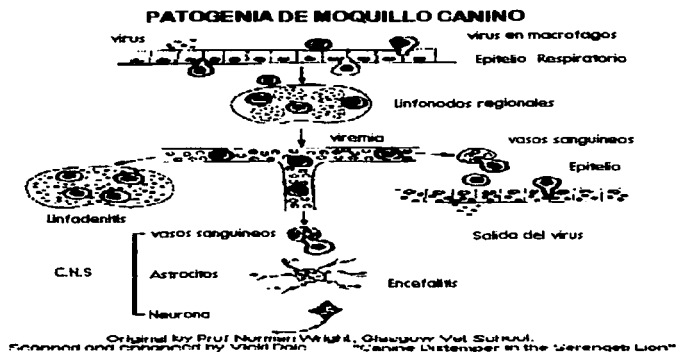


Figura 2. Dibujo de la patogenia de moquillo canino.

El virus de moquillo es muy abundante en exudados respiratorios suele diseminarse por exposición a aerosoles o gotitas después del contacto directo con animales infectados o sus secreciones. El virus puede excretarse hasta 60-90 días después de la infección. La mayor oportunidad de diseminación ocurre donde los perros se mantienen en grupos. Los perros que no reciben inmunizaciones periódicas pueden perder su protección e infectarse después de un estrés, inmunosupresión o en contacto con animales enfermos.

5,9.13.35

Después de la exposición natural, el virus del moquillo canino se sigue diseminando por gotitas de aerosoles y entra en contacto con el epitelio de la vía respiratoria superior. En

el transcurso de 24 horas, se multiplica en macrófagos tisulares y se diseminan en estas células a través de los nodos linfáticos locales a las amígdalas y los nodos linfáticos bronquiales.

El virus se extiende primero a los linfonodos locales y en los siguientes siete días a todos los tejidos linfáticos. Durante este periodo, normalmente entre los días tres y seis post-infección (P.I), ocurre la primera elevación de temperatura junto con la aparición de interferón en circulación.

Alrededor de los cuatro días posinoculación, aumenta el número de virus en amígdalas y nodos linfáticos retrofaríngeos y bronquiales, sin embargo en otros órganos linfáticos se encuentran cifras bajas de células mononucleares infectadas con VMC. Hacia los días cuatro y seis posinoculación, ocurre la multiplicación del virus dentro de los folículos linfoides en bazo, la lámina propia del estómago y el intestino delgado, los nodos linfáticos mesentéricos y las células de Kupffer en hígado. La proliferación amplia del virus en órganos linfoides se debe al aumento inicial de la temperatura corporal y leucopenia; esta última es principalmente una linfopenia causada por el daño viral de células linfoides que afecta tanto células T como B. Es probable que la diseminación adicional de VMC a tejidos epiteliales y SNC en los días ocho y nueve posinoculación ocurra por vía hematogena, como una viremia relacionada con células y de fase en plasma dependiendo del estado inmunitario humoral y celular del perro ^{5,12,13,29,35}

Alrededor del día 14 PI, en perros con estado inmunitario afectado se disemina el virus a muchos tejidos que incluyen piel, glándulas exocrinas y endocrinas y epitelio de los aparatos gastrointestinal, respiratorio y genitourinario. La secuencia de los signos depende de la cepa del virus y el estado inmunológico del animal y pueden ser evidentes y graves en perros con estado inmunológico deficiente, y en pacientes con

adecuados anticuerpos a **VMC** y citotoxicidad mediada por células, se elimina el virus de la mayor parte de los tejidos y no muestra signos clínicos de la enfermedad o tiene respuesta inmune débil y desarrolla la enfermedad subaguda y aguda.

La virulencia viral es otro parámetro que puede afectar la gravedad y extensión o el tipo de enfermedad clínica. Ciertos aislamientos, como las cepas Synder Hill (CDV-SH), Cornell A75/17 (CDV-A 75/17) y Ohio R 252 (CDV-R 252), son altamente virulentas y neurotrópicos.^{6, 25, 40, 47.}

4.1. TRANSMISIÓN

Los transmisión es por contacto directo con animales infectados, eliminan el virus en todas las secreciones y excreciones corporales, la fuente primaria de exposición es por aerosol. La mayor oportunidad de diseminación ocurre en lugares donde los perros se mantienen en grupo. Los perros con mayor susceptibilidad son los jóvenes de 3-6 meses.^{3, 25, 35}

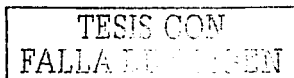
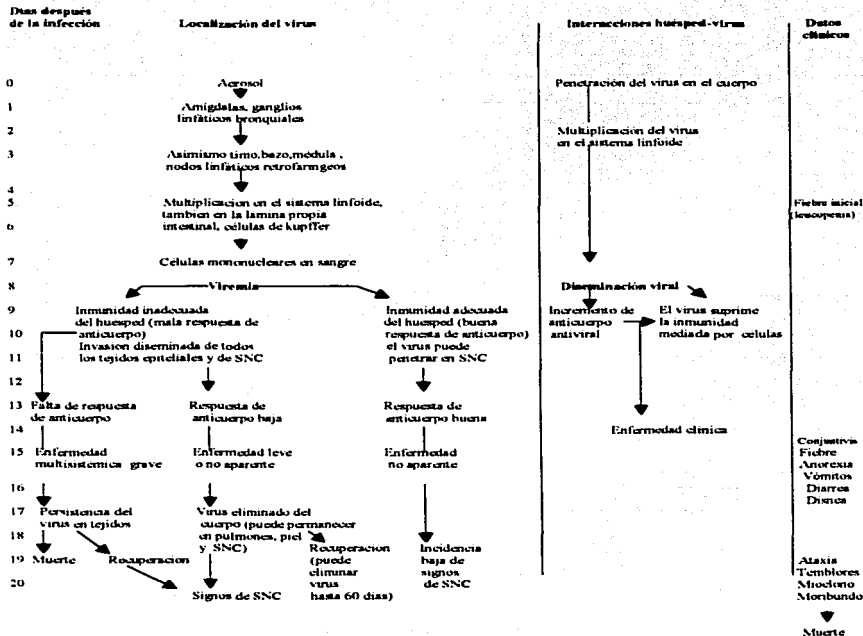


Figura 3. Diagrama de flujo que muestra las etapas más importantes de la Patogenia del moquillo canino. (De Greene CE, Appel MJ. Moquillo canino. Enfermedades Infecciosas en Perros y Gatos, 2da. edición, McGraw-Hill Interamericana 1998:13)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5. SIGNOS GENERALES



Figura 4. Perro con secreción nasal y conjuntivitis.

Los signos clínicos de moquillo canino varían según la virulencia de la cepa del virus, las condiciones ambientales, la edad y el estado inmunitario del animal. Son comunes las formas leves de la enfermedad clínica y los signos incluyen deshidratación, indiferencia, disminución del apetito, pérdida de peso, fiebre difásica de hasta 41°C e infección de vías respiratorias superiores. Muchos perros con infección leve presentan signos clínicos que se pueden confundirse con otras causas. Pueden presentar queratoconjuntivitis seca y se ha observado anosmia persistente en perros que se han recuperado de moquillo canino ^{5,9,12,13,19,20,41,44}

El moquillo generalizado grave ocurre en perros de cualquier edad con mal estado inmunitario, pero afecta con mayor frecuencia a cachorros expuestos, no vacunados,

de 12 a 16 semanas de edad que han perdido su inmunidad materna a cachorros más jóvenes que han recibido cantidades inadecuadas de anticuerpos maternos.

El primer signo es la conjuntivitis leve, serosa a mucopurulenta que va seguida en el transcurso de unos cuantos días de tos seca que se torna húmeda. En tórax, es posible escuchar el incremento de ruidos respiratorios inferiores. La depresión y la anorexia van seguidos de vómitos, que generalmente se relacionan con la alimentación.

La infección transplacentaria es menos común que se presente, en esta el cachorro puede presentar signos neurológicos durante las cuatro o seis semanas de vida. En la perra se observan lesiones leves o no aparentes. Según la etapa de gestación en el que ocurrió la infección, se observan abortos, óbitos o nacimiento de cachorros débiles. Los cachorros infectados *in utero* que sobreviven a estas infecciones pueden sufrir inmunodeficiencias permanentes.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.1 SIGNOS NEUROLOGICOS



Figura 5. Antígeno viral (verde) en linfonodo mediastínico. Prueba de Inmunofluorescencia

La presencia de signos neurológicos también coincide con la enfermedad multisistémica o después de la recuperación de esta, lo cual ocurren semanas o meses después.

Los perros que desarrollan hiperqueratosis nasal y digital generalmente presentan varias complicaciones neurológicas. Las complicaciones neurológicas del moquillo canino son los factores más importantes relacionados con el pronóstico y la recuperación de la infección. Es posible encontrar hiperestesia y rigidez cervical como resultado de la inflamación meníngea, aunque suelen predominar signos parenquimatosos más bien que meníngeos. Son comunes convulsiones, signos cerebelosos y vestibulares, paraparesia o tetraparesia con ataxia sensorial y mioclonos. El tipo de convulsiones de "mascar chicle", suele ocurrir en perros que desarrollan polioencefalomalacia de los lóbulos temporales.

Quando una encefalitis desmielinizante se desarrolla en meses o años después de la infección primaria, la enfermedad es referida como meningoencefalitis del distemper crónico (CDE). Cuando no hay malestares precedentes y los síntomas de encefalitis se desarrollan en perros inmunizados la enfermedad se llama encefalitis del perro viejo (ODE). La similitud entre la panencefalitis esclerosante subaguda (SSPE), causada por virus del sarampión (MV) el cual es un miembro relacionado del género morbillivirus, y la ODE ha impulsado estudios comparativos de estas dos enfermedades. La cepa de VMC aislada de los casos de ODE y CDE muestra diferencias en la nucleocápside (N), hemaglutinina (H) y antígenos de fusión (F) analizados por estudios de proteólisis ilimitada. Estudios moleculares realizados directamente en tejidos de cerebro en pacientes de SSPE indican que la maduración del virus en el cerebro puede estar restringida por defectos en la transcripción y trasducción de una o algunas de las proteínas de la envoltura viral. ^{8 13 18 21 29 45}

Quando el daño de la médula espinal es más extenso puede haber paresia de neurona motora alta del miembro afectado acompañada de mioclonos. Las contracciones rítmicas suelen presentarse cuando el perro esta despierto o con mayor frecuencia durante el sueño. ^{6 13 18}

Estudios más recientes han mostrado que la inflamación en moquillo coincide con la producción intratecal de anticuerpos antivirales y con la eliminación del virus del cerebro. Los macrófagos puede ser inducidos a la expresión de antígenos del complejo principal de histocompatibilidad tipo II y como células efectoras, la microglia expresa MHC II cuando se activa, tal vez a través de incrementos de IFN- γ , una citosina de la célula T. Se reporto que las células del cerebro contienen una población

TESIS CON
FALLA DE

de macrófagos capaces de producir radicales de oxígeno reactivo mediada por quimioluminiscencia luminol dependiente. Esta respuesta depende de la presencia de antígenos virales en las superficies de células infectadas y es mediada por la interacción de antígeno unido a anticuerpo con receptores Fc sobre los macrófagos. Ya que no hay evidencia *in vitro* o *in vivo* de que los oligodendrocitos, las células formadoras de mielina son infectadas, se apoya la hipótesis de que el daño de "células inocentes" es importante en la desmielinación causada por el virus de moquillo canino.^{11,13}

Los anticuerpos antivirales activan la generación de radicales de oxígeno reactivo (ROS) en cultivos de células infectadas con moquillo canino. Los radicales de oxígeno reactivo (ROS) podría dañar células no infectadas como oligodendrocitos. ¹¹

Las lesiones de desmielinización tempranas son asociadas con la presencia de antígeno de VMC y el RNAm, en las células inflamatorias y despliegue de la expresión del complejo principal de histocompatibilidad tipo II (MHC-II), considerando que las lesiones de desmielinización tardía son caracterizadas por la expresión reducida de antígeno de VMC y el RNAm, autorregulación fuerte de la expresión MHC II e infiltración celular inmune que indica un proceso inmunopatológico virus independiente en las alteraciones crónicas ¹¹

TESIS CON
FALLA DE CALIFICACIÓN

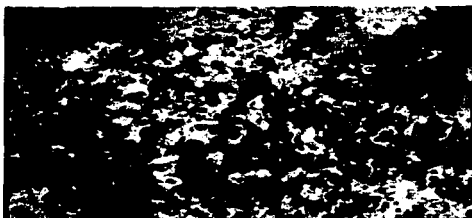


Figura 6. Antígeno viral (verde) en la capa granular de cerebelo de perro con encefalitis.
Inmunofluorescencia

La presencia intracerebral de células B es importante para la producción de anticuerpos intratecales durante la leucoencefalomielitis de moquillo canino desmielinizante crónico (DLE) esta bien documentado. Se encontraron células B, principalmente productoras de IgG.⁵⁶

Además se encontró una respuesta humoral específica contra VMC prominente en suero y fluido cerebroespinal, y se encontraron anticuerpos específicos anti-mielina. Consecuentemente se ha discutido un mecanismo de desmielinación basado en la citotoxicidad mediada por anticuerpo y complemento. Sin embargo, la significancia patológica de los anticuerpos anti-mielina permanece en duda, ya que se han encontrado altos títulos de estos anticuerpos en perros con lesiones resueltas. Además, se sospechó de esta citotoxicidad ya que muchas células T se encontraron en la lesión y perivascularmente. Una declinación de la producción de anticuerpos intratecales se correlacionó con el mejoramiento clínico y se sugirió, que la respuesta inmune humoral era perjudicial en vez de benéfica. Hasta el momento pocos estudios

han investigado la respuesta inmune humoral, en encefalitis del moquillo. En la encefalitis crónica las células de CD3+, a menudo carecen de la expresión de antígeno CD5+, dominando los infiltrados intralesionales perivasculares en presencia de una expresión pronunciada de citocinas Th2. Para investigar más el papel de la respuesta inmune humoral en la patogénesis de la desmielinización del moquillo se estudiaron las similitudes intracerebrales, de células CD4+, CD8+ y células B. ²⁶Este estudio confirma la presencia intracerebral de la respuesta inmune en DLE espontáneo y son las células T las dominantes.

5.2 INFECCIONES NEONATALES

Los cachorros jóvenes infectados con VMC antes del brote de dentición permanente llegan a presentar daño grave del esmalte, la dentina o las raíces dentales. La cual se refleja en un aspecto irregular en el esmalte o la dentina además de la erupción parcial, oligodontia o impacto de dientes. Además es posible encontrar hipoplasia del esmalte como hallazgo incidental en un perro de mayor edad.^{12,13,29}

5.3 LESIONES OSEAS

El osteodistrofia hipertrófica causa cojera y el dolor extremo en los perros jóvenes en crecimiento, normalmente de razas grande. Los gran danés, pastores alemanes, dobermans, perros cobradores y weimaraners son ejemplos de razas que pueden afectarse por esta condición. Parece ocurrir en el weimaraners como una reacción de la

TIENE CON
FALLA DE ORIGEN

vacuna y esto también puede afectar a los mastines y los gran danés. En este caso, ocurre normalmente unos días después de la vacunación .Se manifiesta con regiones metafisis calientes, hinchadas, dolorosas de los huesos largos, cojera episódica o persistente que es generalmente bilateral simétrico, fiebre, pérdida del peso, y anorexia. Se han encontrado transcripciones de VMC en células óseas de perros jóvenes con osteodistrofia hipertrófica (ODH), la cual es una enfermedad del desarrollo que puede ocurrir en perros jóvenes de crecimiento rápido, como perros de razas grandes y gigantes. ¹³

5.4. ARTRITIS REUMATOIDE

En perros con artritis reumatoide se han encontrado valores altos de anticuerpo a VMC en suero y líquido sinovial. Se hallaron antígenos de VMC en complejos inmunitarios del líquido sinovial de perros con artritis reumatoide pero no se encontraron en perros con artropatías inflamatorias o degenerativas. ^{13, 19, 18}

5.5 SIGNOS OCULARES

Con frecuencia, los perros con encefalomiелitis por VMC tienen uveítis anterior leve clínicamente asintomática. Las lesiones oftalmológicas más obvias en el moquillo canino se han atribuido a un efecto del virus en el nervio óptico y la retina. La neuritis óptica suele caracterizarse por el inicio súbito de ceguera, con pupilas dilatadas que no responden al estímulo luminoso. La degeneración y necrosis de la retina producen

densidades irregulares de color gris a rosa con el fondo tapetal o no tapetal, o en ambos. Ocurre desprendimiento ampollar o total de retina en el que los exudados se disecan entre esta última y la coroides. Las lesiones crónicas inactivas del fondo van acompañadas de atrofia y cicatrización retiniana. Son áreas circunscritas hiperreflejantes, denominadas lesiones de medallón de oro, que se consideran características de infección previa por moquillo canino.^{13,18}

6. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico práctico del moquillo canino se basa principalmente en los signos clínicos, apoyada por el antecedente característico de un cachorro de tres a seis meses de edad no vacunado con enfermedad compatible. Los perros con afección grave casi siempre tienen signos clínicos bastante característicos para establecer un diagnóstico presuncional.

Recientemente, se reportó el descubrimiento del gen de NP en las células mononucleares de sangre periférica de perros sospechosos de moquillo canino (MC) por reacción de transcriptasa reversa en reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR).^{13, 53}

Por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ,la demostración de ácido nucleico viral todavía puede ser positiva cuando el aislamiento del virus e inmunocitoquímica no descubren al agente.²

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Investigadores en Alemania han desarrollado una nueva prueba del laboratorio para ayudar en el diagnóstico del distemper canino. El método del laboratorio normalmente usado hoy, en los Estados Unidos, se llama *Virus Neutralizing Assay*. Esta prueba es cara y prolongada. La nueva prueba es una enzima unida a un inmunoabsorbente (ELISA) que identifica los anticuerpos al virus. La prueba se realiza con una muestra de sangre. La evaluación de este nuevo procedimiento, y la prueba no está todavía disponible para el uso masivo en los Estados Unidos.

6.1. LABORATORIO CLINICO

Los datos hematológicos anormales incluyen linfopenia absoluta causada por agotamiento linfoide dependiente de la cepa viral. En la biometrías se observo una monocitopenia (75%) y anemia con eosinopenia (62.5%), y una leucocitosis del (37.5%). En la etapa terminal de la enfermedad según Soto (1990), existe leucopenia severa, mientras que Benjamín (1984), reporta leucopenia ocasional con anemia moderada, en los porcentajes antes mencionados los casos se encontraban en etapa media de la enfermedad siendo más significativa la anemia y la linfocitosis comparado con los otros autores.^{35, 40}

Las inclusiones teñidas con Wright-Leishman en linfocitos son estructuras grises grandes hasta (3 nm), singulares, ovales, en tanto que las inclusiones eritrocíticas, más numerosas en células policromatófilas, son redondas, situadas excéntricamente y de color azul claro. Las inclusiones eritrocíticas son de un tamaño intermedio entre los núcleos de normoblastos ortocromáticos y los cuerpos de Howell-Jolly. El examen

de la capa leucocítica y de la médula ósea y el uso de tinciones floxinofílicas puede mejorar las posibilidades de detectar inclusiones; la microscopía electrónica ha confirmado que las inclusiones consisten en nucleocápsides parecidas al paramixovirus.^{1, 23, 29}

6.2. RADIOLOGIA

La radiología de tórax muestra un patrón pulmonar intersticial en los casos tempranos de moquillo. Se observa un patrón alveolar con infección bacteriana secundaria y bronconeumonía más grave.^{2, 13}

6.3. LÍQUIDO CEFALORRAQUIDEO

En perros con signos neurológicos de moquillo se detectan anomalías en líquido cefalorraquídeo (LCR); sin embargo, cabe anticipar resultados falsos negativos. Se han observado incrementos en las proteínas (> 25 mg/dl) y la cuenta de células (> 10 células/ul con predominancia de linfocitos) característico de las formas inflamatorias de encefalomiелitis por VMC.

Cuando se encuentra un incremento de proteínas en LCR, se ha identificado principalmente como IgG con actividad específica anti-VMC. Se han observado diferencias en la respuesta inmunitaria humoral en LCR y suero a las proteínas de

envoltura H y F entre algunos perros con encefalitis progresiva crónica y los que presentan otras formas de encefalitis por moquillo.

El incremento del anticuerpo anti-VMC en LCR proporciona una prueba definitiva de encefalitis por moquillo por que el anticuerpo se produce en forma local y no se han encontrado estos aumentos en perros vacunados o en los que tienen moquillo sistémico sin afección del SNC.

Se divide la IgG específica de moquillo en LCR entre la IgG en suero y este dato se compara con la relación correspondiente de anticuerpo entre la LCR y suero para otros agentes infecciosos en los cuales cabe esperar títulos de anticuerpo sérico, como Adenovirus CAV. Si la relación para VMC es más alta que en CAV, entonces cabe esperar la producción nueva de anticuerpo en LCR causada por infección del SNC con moquillo. Se ha utilizado asimismo el incremento de interferón en LCR como marcador de encefalitis por VMC. En infecciones agudas de SNC, algunas células mononucleares pueden contener inclusiones intracitoplasmáticas eosinofílicas ovales, grandes. ^{13, 16, 29}

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.4. INMUNOCITOLOGIA



Figura 7. Antígeno viral (amarillo-verde) en lámina propia de duodeno. Inmunofluorescencia

Las técnicas de inmunofluorescencia facilitan un diagnóstico específicos de moquillo canino se hace en frotis citológicos preparados de epitelio conjuntival, amigdalino y respiratorio.

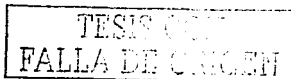
La técnica también se practica en células de LCR, sangre (capa leucocítica), sedimento urinario y médula ósea. El antígeno que se detecta primero en los frotis de la capa leucocítica, desde dos a cinco días después de la inoculación, disminuye a medida que aumenta el título de anticuerpo alrededor de los ocho a nueve días post infección (PI). La fluorescencia positiva en epitelio conjuntival y genital suele detectarse sólo en el transcurso de las tres primeras semanas PI, cuando es aparente la enfermedad sistémica. En ocasiones se detecta el virus por periodos más prolongados en células epiteliales y macrófagos de vías respiratorias inferiores y pueden obtenerse de lavados transtraqueales para el diagnóstico. Así mismo, el virus

persiste por lapsos cuando menos de 60 días en piel, tejido uveal, cojines plantares y SNC. En las fases agudas de la enfermedad es útil el examen con anticuerpo fluorescente directo de células de raspados conjuntival, LCR o frotis sanguíneos. En casos crónicos no suele proporcionar datos por que el recubrimiento del antígeno viral con anticuerpo interfiere con la inmunofluorescencia diagnóstica. Con estos métodos son frecuentes los resultados negativos falsos. Se ha recomendado la biopsia de cojinete plantar como una técnica diagnóstica. Es difícil encontrar antígeno viral en especímenes de perros con moquillo neurológico que carecen de signos sistémicos o se han recuperado de los mismos.

Las técnicas de anticuerpo fluorescente también se practican en cortes por congelación de especímenes de biopsia o necropsia. Los tejidos reunidos de perros que murieron de moquillo deben incluir, bazo, amígdalas, nodos linfáticos, estómago, pulmones, duodeno, vejiga y cerebro.

6.5 PRUEBAS INMUNOLÓGICAS PARA EL DIAGNOSTICO

ELISA es un método de microneutralización que ha simplificado más las pruebas de anticuerpo neutralizante en laboratorios diagnósticos. Se ha utilizado ELISA más sensible para detectar IgG e IgM séricos contra VMC. En perros que sobreviven a la fase aguda de la infección llegan a medirse títulos altos de anticuerpo IgM neutralizante en suero. Aunque la detección de IgM es específica de infección reciente o vacunación con VMC, esta prueba debe realizarse en laboratorios especializados. Se ha desarrollado un método IgM ELISA que podría simplificar el procedimiento del



diagnóstico mediante IgM serica. Los títulos séricos altos de IgM han sido más precisos para detectar casos agudos de moquillo canino (81%) comparados con encefalitis inflamatoria progresiva crónica (60%). A diferencia de los incrementos de los títulos sericos de IgM, los títulos altos de IgG son ambiguos y pueden indicar una infección pasada o actual con VMC o vacunación contra el mismo.³³ ELISA es una prueba específica para VMC detectando IgM. La IgM persiste en perros con moquillo por 5 semanas a 3 meses, dependiendo de la cepa del virus y la respuesta del hospedero. La IgM en perros vacunados persiste por aproximadamente 3 semanas.² En leucocitos de 5 de 15 perros (todos de los cuales también eran IgM positivo) VMC fue descubierto RNA por transcripción inversa (RT)-PCR. La ELISA de captura que descubre anticuerpos específicos de la clase de IgG proporcionó superior sensibilidad, especificidad y así representa una rápida y rentable alternativa comparada con la neutralización viral (NV) clásica para el diagnóstico de VMC. Por detección de anticuerpos de IgM específicos, ELISA será complementario a RT-PCR y NV en el diagnóstico de infecciones de moquillo agudas.^{33, 60}

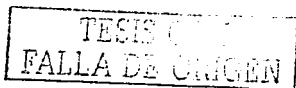
Se ha comprobado la inmunosupresión mediada por células después de la infección por VMC. Las pruebas de transformación de linfocitos de recién nacidos infectados experimentalmente han demostrado una depresión intensa de la respuesta de linfocitos a fitomitoógenos en una época que corresponde a viremia aguda y linfopenia. Esta respuesta deprimida persistió más de 10 semanas en cachorros convalecientes y nunca regreso a los valores basales en los que murieron en forma aguda. Las infecciones prenatales y neonatales por moquillo causan inmunodeficiencia en los cachorros que sobreviven y pueden agravar infecciones concurrentes con otros virus.

Fijación de Complemento (FC). Es una buena opción para la evaluación inmunológica de los animales. El diagnóstico de moquillo canino se ha logrado detectando antígeno viral en órganos de animales infectados, principalmente en bazo utilizando la técnica de FC directa inclusive, se ha demostrado que el suero de perros convalecientes de moquillo canino fija el complemento en presencia del antígeno de sarampión.

6.6. AISLAMIENTO VIRAL

Ha sido difícil aislar VMC virulento en cultivos celulares rutinarios. La replicación viral más satisfactoria ocurre durante el cultivo directo de tejidos blanco del huésped infectado. Los cultivos de macrófagos alveolares detectan el virus en 24 a 48 horas. La formación de células gigantes (sincitio), un efecto citopático característico de VMC en muchos cultivos de tejido, se detecta en el transcurso de dos a cinco días, para cuya época es posible aislar el virus mediante superposiciones hechas en otras células. Los cultivos de macrófagos han sido reemplazados últimamente por los cultivos de linfocitos de perros para aislar VMC. Pueden cultivarse células de la capa leucocítica o de tejidos de animales infectados con linfocitos sanguíneos caninos estimulados por mitógenos y examinar los cultivos 72 a 144 horas después mediante inmunofluorescencia. Se ha utilizado asimismo una célula de líneas linfoides (B95a) de marmota ²⁸

Para determinar las regiones antigénicas de (proteína de la nucleocápside) NP, se construyeron mutantes, del gen de NP de la cepa de Onderstepoort de VMC y se expresó éstas proteínas de la tachadura en un sistema de expresión migratorio. El



análisis de antígenos de las proteínas expresadas fue entonces llevado a cabo usando tres anticuerpos monoclonales (MAbs) contra VMC NP, c-5, f-5 y h-6, y un anticuerpo del policonal NP-específico. Además se han analizado las localizaciones celulares diferentes de las proteínas anuladas.⁶⁰

6.7. DATOS HISTOPATOLÓGICOS

Los perros jóvenes, infectados con VMC antes de nacer o recién nacidos, suelen tener atrofia tímica. En cachorros con enfermedad sistémica infectados después de nacer se observan neumonía y enteritis catarral.

En el examen histológico, las inclusiones de VMC suelen ser citoplasmáticas y de tinción acidófila. Miden de 1 a 5 nm, pueden encontrarse en células epiteliales de las mucosas, células reticulares, leucocitos, e inclusiones intranucleares en glía y neuronas. Es posible observarlas hasta cinco a seis semanas post-infección en el sistema linfóide y en vías urinarias. Las inclusiones intranucleares son más comunes en epitelio de revestimiento o glandular y en células ganglionares.

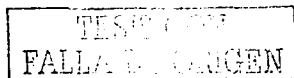
En el examen histológico del tejido nervioso revela satellitosis neuronal, neurofagia, gliosis focal, infiltración leucocitaria perivascular, proliferación de astrocitos y formación de sincitios.⁴¹

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

8. TERAPÉUTICA

Los objetivos del tratamiento, aunque de apoyo e inespecíficos, suelen ser benéficos para reducir la mortalidad. La única razón para rehusarse a iniciar tratamiento a insistencia del propietario es la presencia de signos neurológicos que son incompatibles con la vida. Incluso cuando no existen estos últimos, es posible que posteriormente se presenten secuelas.

Los perros con infecciones respiratorias superiores deben conservarse en ambientes limpios, calientes y sin corrientes. Es necesario limpiar los exudados oculonasales de la cara. La neumonía se complica con frecuencia por infección bacteriana secundaria, por lo general *Bordetella bronchiseptica*, que requiere de antibioterapia de amplio espectro y expectorantes o nebulización y golpes en el tórax con la mano acopada para remover los estertores ^{25,29, 40,44}. Las elecciones iniciales de antibióticos adecuadas para bronconeumonía incluyen ampicilina, tetraciclina, cloramfenicol, florfenicol, cefapirina y enrofloxacin. La terapéutica antimicrobiana debe modificarse cuando lo indican las pruebas de sensibilidad basadas en el lavado traqueal o que no hay respuesta a los antibióticos iniciales. Cuando existen vómitos y diarrea se suspenden el alimento, el agua y medicamentos o líquidos orales, y quizás se requiera antieméticos parenterales. Los suplementos con líquidos isotónicos poliionicos, como la solución de Ringer con lactato, debe administrarse por vía intravenosa (IV) o subcutánea (SC), según el estado de hidratación del paciente. Se proporcionan vitamina B como tratamiento inespecifico para reemplazar la que se pierde por anorexia, diuresis y a fin de estimular el apetito.



El tratamiento de las alteraciones neurológicas en el moquillo canino es menos satisfactorio. La encefalitis multifocal progresiva suele conducir a tetraplejía, semicoma e incapacidad tan considerable que debe recomendarse la eutanasia. Las convulsiones, el mioclonos o la neuritis óptica son tres manifestaciones neurológicas en perros que toleran muchos propietarios ^{13,17} Por lo general, el mioclonos no tiene tratamiento y es irreversible, aunque se ha intentado sin éxito muchas terapéuticas. Se ha recomendado administrar anticonvulsivos después del inicio de la enfermedad sistémica pero antes del desarrollo de convulsiones. Las convulsiones se tratan mejor con diazepam parenteral (5 a 10 mg/dosis rectal o IV lenta) para estado epiléptico y fenobarbital para prevención constante. La pirimidona o bromuro de potasio son elecciones alternativas y en casos resistentes quizá se requieren combinaciones a dosis más altas. La terapéutica con glucocorticoides a dosis antiinflamatorias tiene éxito variable en el control de la ceguera y dilatación pupilar causadas por la neuritis óptica o en algunos de los signos relacionados con la forma inflamatoria más crónica de encefalitis ²⁹

Debido a las características del Moquillo canino de deprimir el sistema inmunológico y que hasta la fecha no existe un tratamiento que disminuya en forma significativa la mortalidad de los pacientes afectados, es necesario buscar nuevas alternativas terapéuticas que, como el Factor de transferencia (FT), pudieran aumentar la capacidad inmunológica de los pacientes, y que pudieran mejorar la sobrevivencia de los individuos afectados.

El uso del Factor de Transferencia descrito originalmente por Lawrence en 1955 haciendo una preparación cruda de extracto dializable leucocitario, contiene RNA, es un fragmento dializable de células T del sitio antígeno receptor conteniendo

información para actuar sobre alguna célula progenitora para inducir especificidad en algún antígeno o grupo de antígenos. El componente activo del FT son pequeñas moléculas con peso molecular de 2000 A 5000 daltones. El término FT es aplicado a la sustancia obtenida de la diálisis de leucocitos, capaz de regular las respuestas de linfocitos T contra un antígeno específico. ^{13 40}

La vía de aplicación es intramuscular o subcutánea, su dosificación es 1.0 UI para animales entre 10 y 30 kilos de peso, administrada cada tercer día por vía IM, hasta que el cuadro infeccioso desaparezca. En animales de laboratorio dicho periodo es aproximadamente una semana, por lo consiguiente requerirá tres dosis.

La azatioprina, comercializada con el nombre de IMUREL por los laboratorios Gayoso-Wellcome y cuya fórmula química es 6-((1-metil-4-nitro-1H-imidazol-5-il)ti)-1H-purina fue la elegida. La azatioprina es un análogo de las bases puricas de los ácidos nucleicos de los cromosomas.

Además posee también un anillo imidazólico muy activo enzimáticamente, presente en un gran número de compuestos bioquímicos, como antifúngicos imidazólicos, antiácidos antagonistas H2 etc. siendo unas de sus propiedades de nuestro interés la capacidad de estimular la actividad de fosfodiesterasas (enzimas encargadas principalmente del catabolismo de los RNAm) e inhibir ciertas polimerasas (enzimas encargadas de la síntesis de las cadenas de ácidos nucleicos). Por último la azatioprina actúa en los linfocitos como células blanco, lo cual se valoró positivamente pues la replicación vírica del VMC se produce en los linfocitos en las primeras fases de la infección. La dosis estándar para la azatioprina se estableció en 1 mg/kg/día

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

(dosis ya constatada para otras patologías en perros) y la duración promedio del tratamiento fue de dos semanas.

Después de más de dos años utilizando la azatioprina en todos los casos de moquillo canino el resultado médico-terapéutico ha sido muy satisfactorio (más del 90% de curaciones, y las únicas bajas fueron debidas exclusivamente a enterotoxemias o cuadros encefálicos muy graves) lo cual nos induce a atribuir a la azatioprina un efecto antivírico, que por pequeño que fuera produciría un cierto retraso en la multiplicación vírica, permitiendo que el huésped inicie mecanismos inmunológicos suficientes como para alcanzar la curación.

9. PREVENCIÓN

La inmunidad a la infección por VMC se considera prolongada, y la inmunidad duradera y la homogeneidad inmunológica del virus han hecho que sea posible prevenir la enfermedad mediante la vacunación. Los anticuerpos maternos que pasan tanto en útero como en calostro de la perra, pueden interferir con la inmunización adecuada en cachorros durante algún tiempo después del nacimiento y el destete, respectivamente.

El anticuerpo materno a VMC disminuye con una vida media de 8.4 días. El 3% de la transferencia de anticuerpo a VMC ocurre *in utero* y el 97% en el calostro, dando por resultado un título inicial en cachorros recién nacidos en amamantamiento que suele ser igual al 77% de la perra. Cuando el cachorro no ingiere calostro, es probable que el cachorro este protegido cuando menos por una a cuatro semanas. En cachorros en

amamantamiento, monogramas basados en el título en la perra para determinar cuando debe llevarse a cabo la inmunización son adecuados, aunque no es practico rutinariamente. Los anticuerpos maternos suelen desaparecer entre las 12 y 14 semanas de edad. Las vacunas para VMC por lo general se administran cada tres o cuatro semanas entre las 6 y 16 semanas de edad en cachorros que recibieron calostro. Esta protección suele ser adecuada, a menos que el perro se exponga a un virus altamente virulento o a grandes cantidades de virus, o tenga estrés o una alteración inmunitaria. Después de la vacunación única para moquillo, los cachorros sin inmunidad natural no suelen desarrollar una inmunidad que dure cuando menos un año. Por esta razón, a pesar de la interferencia del anticuerpo materno, deben administrarse como mínimo dos vacunas para moquillo a intervalos de dos a cuatro semanas la primera vez que se atienden recién nacidos con supresión de calostro y perros mayores de 16 semanas. De igual forma, y debido a que los perros mayores vacunados aun pueden desarrollar moquillo, se recomiendan refuerzos periódicos para esta enfermedad, a pesar de la inmunidad relativamente prolongada proporcionada por la vacunación.^{2,12,13}

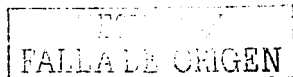
Los mecanismos inmunitarios humorales no explican por completo la resistencia a VMC. Al parecer la vacunación con virus atenuado protege a perros no vacunados previamente cuando se administra dos días antes de la exposición al virus de moquillo virulento, comparada con cinco días cuando menos con la vacunación SC. La vía intravenosa debe reservarse para proteger perros expuestos, no vacunados. Se sabe que a pesar de la disminución del título de anticuerpo, la inmunidad por moquillo después de la vacunación de refuerzo o anamnésica dura siete años, como se ha demostrado en perros aislados, con reto.

TESIS
FALLA DE ORIGEN

Vacunas de virus vivo modificado La mayoría de las vacunas disponibles actualmente son las producidas por adaptación del virus a células aviares o cultivos celulares caninos. Este tipo de vacunas es muy efectivo ya que producen una inmunidad no menor a un año hasta varios años en la mayoría de los perros. Existen pequeñas desventajas en cada vacuna las cepas virales adaptadas a células caninas inmunizan al 100% de los perros susceptibles pero esporádicamente pueden producir encefalitis posvacunal. Por el contrario, las cepas virales adaptadas a células aviares son más seguras para caninos aunque la respuesta inmune aparece de 2 a 3 días después que la producida por vacunas adaptadas a células caninas y además posee desventaja de que no todos los perros susceptibles son protegidos. Cualquier vacuna de tipo modificado puede ser fatal para otros animales salvajes y de zoológico (por ejemplo, pandas rojos o hurones de patas negras). Para estas especies debe utilizarse vacunas de virus inactivado.^{2,3,6,18} Algunos ejemplos de vacunas de virus vivo modificado Rockborn (Duramune ,Ford Dodge) ,(Commander ,BioCor) cepa Snyder Hill (Vanguard ,Pfizer) , cepa Onderstepoort, (Progard, Intervet),(Galaxy, Schering-Plough).¹³

Vacunas de virus inactivados (VVI) Son vacunas que se usaron a principio de siglo, no lograron controlar la enfermedad y ya no están disponibles en el mercado.

Vacunas de virus heterotípico (sarampión) La vacunación con el VS ha sido la mejor manera de vencer la interferencia de los anticuerpos maternos con la inmunización. Una combinación de vacunas atenuadas de VMC y VS se utilizan comúnmente en cachorros de 6 a10 semanas. Esto ofrece la ventaja de protección completa en ausencia de anticuerpos maternos y protección parcial en presencia de ellos.^{3,18,42}



Vacunas recombinantes y vacunas de ADN. Con los avances de la biotecnología se están produciendo muchas vacunas recombinantes contra el MC. Los virus portadores (por ejemplo, vaccinia, poxvirus de canario, adenovirus o baculovirus) son adecuados para utilizar en perros. Como insertos se utilizan los genes que codifican para las proteínas H y F, que producen una inmunidad protectora. Actualmente esta disponible en el comercio una vacuna con insertos utilizando poxvirus de canario como vector eficaz.^{13,39} Aún y cuando la protección se puede asegurar con estos productos, es difícil igualar la eficiencia y la duración de la inmunidad de las vacunas con virus vivo modificado utilizadas actualmente. Los complejos inmunoestimulantes (ISCOMS) y las vacunas de ADN son estables, resistentes a temperaturas extremas lo que hace más práctico y menos costoso su almacenamiento. Pueden utilizarse para desarrollar subtipos antígenos más extensos e inducir respuesta humoral y mediada por células. Vacuna comercial vector recombinante (Recombitek, Merial).^{13, 39}

Programa de vacunación. El programa de vacunación de cachorros contra VMC debería incluir una combinación de virus modificados de VS-VMC a las 6 – 8 semanas de edad. Luego, 2 revacunaciones con VMC separados por 3 – 4 semanas. Se recomienda una revacunación anual, ya que puede haber pérdida de anticuerpos debido a variaciones de las vacunas o del huésped. La mayoría de los perros quedan protegidos con vacunaciones con 2-3 años de intervalo. Se pueden evaluar los niveles de anticuerpos neutralizantes para confirmar la inmunidad. Los cachorros que no han ingerido calostro no deben vacunarse con vacunas de virus vivo modificado de VMC antes de las cuatro semanas de edad.

TESE CON
FALLA DE ORIGEN

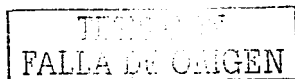
9.1 COMPLICACIONES POSVACUNALES

La eficiencia y la seguridad de la vacunación para moquillo con **VVM** (virus vivo modificado) en perros con sistemas inmunitarios alterados son consideraciones importantes. Los perros con dietas deficientes en ácido fólico y tratamiento con metotrexato no respondieron a la vacunación para moquillo con **VVM**. Si bien a diferencia del virus virulento, el **VVM** al parecer no suprime por sí mismo la **IMC** valorable, cuando se combinó con **VMC** con Adenovirus 1 (**CAV-1**) o Adenovirus 2 (**CAV-2**), ocurrió una supresión importante en la respuesta de las pruebas de transformación de linfocitos.

Se ha observado encefalitis en perros después de la vacunación con vacunas de moquillo de **VVM**. De manera característica los signos neurológicos se inician 7-14 días después de administrar una vacuna para moquillo canino de **VVM**.^{5,12}

9.1.1 INTERFERENCIA DE LA VACUNA

La respuesta a la vacunación para moquillo en perros suele ser afectada por influencias ambientales adversas. La humedad alta (85 a 90%) y la temperatura elevada que originan en perros temperaturas rectales de 39.8°C en promedio reducen la respuesta inmunitaria después de la vacunación para moquillo. Se sospecha que la infección parvoviral concurrente reduce la respuesta de anticuerpo de perros vacunados contra moquillo canino, tiene el potencial para precipitar la inducción de la vacuna de moquillo.^{40,42}



Los anticuerpos maternos estos interfieren con la inmunización y su persistencia en cachorritos influye notablemente en la época de la vacunación. El pasaje transplacentario de los anticuerpos maternos varía de 3 a 20% del nivel del suero de la madre. Durante el primer día de vida del cachorro la porción predominante de los anticuerpos en el calostro (aproximadamente 80%) es absorbida en el intestino. La vida media de los anticuerpos maternos se estima en 8.4 días.

9.1.2 VACUNACIONES PARA SARAMPIÓN

En 1965, Philips Roxane introdujo la utilización de vacunas de sarampión para contrarrestar los problemas de inmunización de cachorros. La vacuna heterotípica se recomienda en zonas de alta prevalencia de moquillo canino para cachorros menores de diez semanas de edad, en los cuales la vacuna de distemper puede no ser efectiva debido a la interferencia de los anticuerpos maternos.¹³

Los virus de moquillo canino y del sarampión humano se relacionan antígenicamente y la infección experimental de perros con virus de sarampión protegió a estos animales de una infección subsecuente con VMC. Después de la vacunación para sarampión se elevan muy poco los títulos de anticuerpos contra virus de moquillo a pesar de una protección adecuada. Se requiere una masa de antígeno más alta en productos caninos debido a la naturaleza heteróloga de este producto. La vacunación para sarampión ofrece una ventaja teórica de proteger a cachorros jóvenes con concentraciones altas de anticuerpos maternos para moquillo. Solo deben utilizarse como un sustituto de la primera vacunación en cachorros de 6 a 12 semanas de edad.

La inmunidad a moquillo adquirida con la vacuna para sarampión no solo es temporal sino más débil que la derivada de la vacunación satisfactoria con vacuna para moquillo de VVM.

10. CONTROL AMBIENTAL

El virus de moquillo canino (VMC) es extremadamente susceptible a desinfectantes comunes. Los perros suelen eliminar el virus en las secreciones durante una o dos semanas después de la enfermedad sistémica aguda. Los solventes lipídicos al 0.3% inactivan al virus en diez minutos, el formaldehído al 1% en dos horas, los compuestos fenol al 1% en varias horas y los cuaternarios de amonio al 0.2% en treinta minutos, solución de hipoclorito y éter, el virus se inactiva fácilmente con la luz ultravioleta.^{12,13}

25

11. SALUD PÚBLICA

La esclerosis múltiple (EM) es un problema neurológico del hombre que semeja tanto a la panencefalitis esclerosante subaguda (PESA, una encefalitis del hombre que se piensa es causada por una infección crónica con virus de sarampión defectuoso o latente) como a la encefalitis por moquillo progresiva crónica en perros. Las dos últimas enfermedades son similares histopatologicamente, con desmielinización, proliferación glial y otros datos característicos de una encefalitis no supurativa persistente, crónica. Aún no se conoce con certeza la causa de la EM, pero no existen pruebas sustanciales que relacionen al virus del sarampión o el moquillo.

Se ha sugerido que la enfermedad de Paget, un trastorno óseo inflamatorio en personas, podría relacionarse con VMC adquirido por exposición a perros. Es una enfermedad crónica que conduce a la destrucción, remodelamiento y deformación progresivos de hueso. Se han acumulado pruebas que indican que puede deberse a la infección crónica de osteoclastos por paramixovirus. Mediante hibridación *in situ*, se han encontrado secuencias genéticas de VMC en el hueso del 63.5% de pacientes con enfermedad de Paget no tratados. Se encontró asimismo, que la posesión de perros tenía correlación alta con pacientes de enfermedad de Paget, aunque no deben exagerarse la relación indirecta entre estos factores, porque se estableció una correlación similar con propietarios de gatos y aves ^{2, 13, 15, 29}

Hasta el momento se desconoce la etiología exacta de la enfermedad de Paget, aunque algunos datos indican que puede tratarse de una infección por virus lentos. Así, se ha descrito la presencia de inclusiones intranucleares y citoplasmáticas en osteoclastos de pacientes con enfermedad de Paget, que poseen una estructura idéntica a las de las nucleocápsides de los paramixovirus.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

12. RESPUESTA INMUNE CONTRA MOQUILLO

El virus del moquillo puede persistir en el organismo de por vida, venciendo la resistencia del hospedero al evadir y trastornar los mecanismos de defensa antivirales.

La persistencia esta asociada de manera cercana a la virulencia. La proteína de la nucleocápside (N) es importante para que el virus persista ya que cumple funciones regulatorias en transcripción y replicación e influye en el ensamblaje del virus.

La proteína M importante para la maduración del virus, está bajo la bicapa lipida y sirve como enlace entre la nucleocápside y las glicoproteínas de superficie F y H. Estos dos antígenos de superficie y protectores virales. La proteína F facilita la diseminación del virus entre las células y la proteína H, con actividad neuramidasa es importante para la liberación de las partículas virales de las células. Se sabe que la proteína H tiene una interacción específica de especie con el receptor celular y es responsable del tropismo selectivo del virus ^{12, 19}

La respuesta inmune en perros después de la infección con VMC virulento depende de la cepa del virus y el hospedero. La infección de VMC de perros, generalmente causada por inhalación de aerosoles, puede llevar a la enfermedad sistémica con inmunosupresión severa ya que el virus se replica en macrófagos del tracto respiratorio y tejidos linfoides. ^{6,51, 56}

Durante la fase temprana los perros están casi siempre linfopénicos e inmunosuprimidos. El vaciamiento de linfocitos y necrosis de tejidos linfáticos parece ser un efecto directo de la infección con VMC. Los cambios macroscópicos y microscópicos de los tejidos linfoides inducidos por VMC incluyen atrofia de timo, vaciamiento de áreas de células T y B con pérdida de folículos secundarios,

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

hiperplasia de células reticulares, necrosis folicular, formación de células gigantes, y cuerpos de inclusión intracitoplásmicos en células reticulares y linfáticas .

Los estudios experimentales indicaron que estas alteraciones morfológicas en tejido linfóide son reversibles en un animal que se recupera de la infección leve. ⁵

Los mecanismos de inmunosupresión asociados al VMC, permanecen no claros y muchas hipótesis se han formulado incluyendo la citólisis de células T mediadas por virus o la función distorsionada de células CD4+. Se han encontrado células CD4+ y CD8+ infectados con moquillo canino utilizando inmunohistoquímica con doble marcaje. En un estudio reciente se ha mostrado, que la carencia de transcripciones de RNAm de algunas citocinas de sangre periférica, incluyendo IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF, y TGF, ya sea debido a la eliminación de células productoras de citocina o desregulación de los genes de citocina en leucocitos infectados por el virus, todo esto asociado con la viremia en el moquillo canino, lo cual indica que un efecto inducido directamente por el virus puede ser el responsable de la disminución de la respuesta inmune . Además del impedimento continuo de la respuesta inmune después de la eliminación del virus de los órganos linfoides, puede verse la activación de una población celular supresora. ⁵⁰

Los perros que se recuperan rápido tienen una respuesta humoral vigorosa y reacciones inmunes celulares. Los anticuerpos neutralizantes aparecen entre 10-20 PI y alcanzan pronto niveles máximos.

La respuesta citotóxica humoral dependientes del complemento siguen un patrón similar tanto la IgM específica al virus como la IgG aparecen temprano en la infección; la IgM específica al virus puede medirse por 5 semanas hasta 3 meses después de la infección. La IgG específica al virus parece ser más importante para

inmunidad. ⁵ Las respuestas inmunes medidas por células T citotóxicas circulantes, aparecen entre los 10-14 días PI y son máximas a los 14-21 días PI. Mientras que la respuesta inmune humoral persiste en perros recuperados durante varios años, quizás durante toda la vida, la respuesta inmune mediada por células es de corta duración ⁵ Los perros que sobreviven a la infección por VMC son probablemente inmunes de por vida. Tales perros resistieron a la exposición al virus virulento después de 7 años de haber sido infectados ⁵

Los perros que sucumben al MC agudo entre 2-4 semanas PI, dependiendo de las cepas del virus, tienen menos o ningún anticuerpo que neutraliza el virus en su suero y las respuestas inmunes mediada por células o están ausentes o son tardías. Se observa gran variación en la respuesta inmune en perros que sucumben al MC subagudo o crónico, y perros que sobreviven a una infección persistente en el CNS. Los perros que sucumben usualmente tienen una producción retardada de anticuerpos neutralizantes o de respuesta inmune celular, además su respuesta inmune contra otros antígenos también está deprimida.

Los perros que mueren de infección de moquillo canino agudo en CNS o que están persistentemente infectados tienen, con pocas excepciones, anticuerpos neutralizantes de virus dependientes de macrófago e interferón en el líquido cefalorraquídeo. Concentraciones altas de IgG y concentraciones altas de IgM en LCR de estos perros fueron reportados por Cutler y Averill. ⁵

En animales infectados con el VMC los linfocitos T, B y los macrófagos se considera que son blancos primarios de la infección ⁵⁰En contraste, las células dendríticas parecen servir como células hospederas para los virus de perros infectados. El cambio en el tropismo celular refleja una consecuencia de la respuesta inmune y representa

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

un mecanismo de persistencia viral como ha sido descrito para las neuronas y oligodendrocitos. La ausencia de RNAm del virus en células dendríticas foliculares indicaría el atrapamiento del antígeno por células dendríticas foliculares no infectadas como se ha descrito anteriormente para esta enfermedad.

Se ha detectado una pérdida más pronunciada de células CD4+ comparada con las células CD8+, como referencia este descenso de CD4+ puede deberse a un daño directo de las células mediado por el virus o efectos inducidos mediados por células dendríticas infectadas. La infección de células dendríticas epiteliales tímicas por el VMC puede interferir en la maduración y formación de células T comprometidas, llevando a la liberación de células T inmaduras, incluyendo células potencialmente autoreactivas⁵⁶

Se ha asumido, que después de la eliminación linfoide inicial en la etapa aguda de la infección de MC puede desarrollarse una regeneración de órganos linfoides en la fase crónica de la enfermedad. No obstante la repoblación linfoide y la eliminación del virus de tejido linfoide no produce regeneración funcional completa de la respuesta inmune. Esto podría reflejarse en la composición fenotípica ligeramente modificada de las subpoblaciones de células T de animales infectados. Además, las células mononucleares supresoras y la disminución de IL-1 por los macrófagos, se pensó que era responsable de la inmunosupresión transitoria en estos perros⁵⁶

En el sarampión, la respuesta inmune impedida de largo plazo esta asociada con un incremento a la secreción de IL-4 e IL-6 por las células mononucleares, indicando un cambio de las células T cooperadoras hacia el tipo Th2. Es posible que este fenómeno también sea inducido por el VMC.⁵⁶

La neuropatología reveló dos tipos diferentes de encefalitis por MC caracterizadas por la encefalitis desmielinización inflamatoria crónica y la encefalitis no inflamatoria aguda. Los linfocitos T representan el tipo celular inflamatorio principal en los perros con CDE. Los linfocitos CD8⁺ han sido identificados predominantemente en el parénquima de la materia blanca de perros con encefalitis inflamatoria y no inflamatoria, las células CD4⁺ y linfocitos B estuvieron presentes abundantemente en los infiltrados perivascuales de las lesiones de la encefalitis en la materia blanca. La relación CD8⁺ -CD4⁺ en el parénquima de la materia blanca de perros con encefalitis inflamatoria crónica fue cerca de 3-1. Casi lo opuesto a la relación celular CD8⁺ y CD4⁺ observada en las áreas de las células T que indican una migración selectiva más que al azar de células CD8⁺ en el parénquima. ^{58,59}

La ausencia de infiltrados inflamatorios intracerebrales coincide con la eliminación linfocítica severa en los tejidos linfoides, mientras que la repoblación de tejido linfoide esta asociada a una marcada encefalitis linfoplasmacítica. Deben de dirigirse estudios en el futuro para establecer la importancia de los subtipos de células T para la iniciación, progresó y terminación de la infección por VMC en las fases tempranas y tardías por análisis de perfil de citocina y el papel de la repoblación linfoide para el desarrollo de las lesiones desmielinizantes crónicas. ⁵⁹

La interacción de anticuerpos antivirales de MC con células persistentemente infectadas con VMC ha mostrado compartir similitudes con la interacción de anticuerpos contra sarampión y células infectadas primero en ausencia de complemento, la IgG antimocoquillo removerá glicoproteínas del VMC de la superficie celular de células persistentemente infectadas por VMC. Este proceso de modulación mediado por anticuerpos no esta restringido a los morbillivirus y se ha demostrado con varios virus

incluyendo el virus de las paperas, influenza, herpes, y LCMV. Segundo, en el sistema del virus de moquillo y el virus de sarampión la modulación puede proceder en presencia de complemento ²²

Parece haber una ventana crítica donde con suficiente IgG antiviral y ligeramente deprimido de complemento, se presenta lisis celular. Esto puede ser importante en la generación de infecciones persistentes .En presencia de IgG antiviral y complemento, las células infectadas con sarampión son pocas .Esto se ha mostrado completamente dependiente de la vía alterna del complemento. En ausencia de IgG específica antiviral las células infectadas con el virus de sarampión activarán la vía alternativa del complemento directamente aunque la lisis celular no ocurre. Esta activación directa de la vía alternativa, se usa para el virus del sarampión si no también parece ser utilizada por el virus de moquillo canino como forma de distracción de la respuesta inmune ²²

El cofactor para la infección de las células blanco con el virus de moquillo canino (VMC) es la molécula CD9, la cual tiene funciones en el ciclo de replicación viral. Es posible que esta molécula forme parte del complejo receptores y es una proteína transmembranal que se encuentra en las superficies de células pre-B y células B inmaduras, células T activas, monocitos y plaquetas y en células del sistema nervioso central ^{31,55}

Los estudios de células epiteliales tímicas de ratón y humanos infectados con virus apoyan esta interpretación .El CD5 es expresado más tardíamente en el desarrollo de las células T del timo que el antígeno CD3 y una expresión fuerte del antígeno CD5 debe estar correlacionado al proceso de selección terminal ⁵⁹

Los mecanismos por los cuales se produce lisis celular a través de la vía alternativa del complemento permanecen no son claros aunque se sabe que ciertas células nucleadas y no nucleadas activan la vía alterna del complemento. Este fenómeno se ha atribuido al potencial de las superficies celulares para proteger C3b unida a células de la acción de enzimas inactivadoras de los factores H e I.²² La razón precisa del por qué las células transformadas por virus e infectadas por virus activan la vía alterna no se sabe. Esto puede estar relacionado a las glicoproteínas virales de la superficie celular y/o cambios de la superficie celular asociados con la transformación viral y la infección.

Se ha mostrado que para producir lisis de células infectadas por sarampión hay un requerimiento de IgG antivirales y properdina.²² Esto se atribuye al hecho que las células no contienen enzimas de reparación de membrana y para producir lisis celular requiere la formación del complejo C3b-9 y la activación de C3. La properdina parece jugar un papel central de la activación de la convertasa C3bBb de la vía alterna del complemento y la IgG antiviral puede promover captación de properdina en la superficie celular.

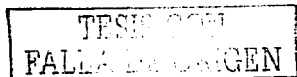
Estudios más recientes han mostrado que la inflamación en distemper coincide con la producción intratecal de anticuerpos antivirales y con la eliminación del virus del cerebro. Los macrófagos pueden ser inducidos para expresar antígenos del complejo principal de histocompatibilidad tipo II y pueden ser estimulados para liberar mediadores como interleucina 1 y factor de necrosis tumoral. Se reportó que las células del cerebro contienen una población de macrófagos capaces de producir especies de oxígeno reactivo mediada por quimioluminiscencia (luminol dependiente). Esta respuesta depende de la presencia de antígenos virales en las superficies de

células infectadas y es mediada por la interacción de antígeno unido a anticuerpo con receptores Fc sobre los macrófagos. Las lesiones de desmielinización tempranas son asociadas con la presencia de antígeno de VMC y el RNAm, en las células inflamatorias y despliegue de la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (MHC-II), considerando que las lesiones de desmielinización tardía son caracterizadas por la expresión reducida de antígeno de VMC y el RNAm un desajuste en la autorregulación de la expresión MHC II y una infiltración celular inmune que indica un proceso inmunopatológico virus independiente en las alteraciones crónicas⁵⁶. La presencia intracerebral de células B y su importancia para la producción de anticuerpo intratecales durante la leucoencefalomielitis del distemper canino desmielinizante crónico (DLE) esta bien documentado. Se encontraron células B, principalmente productoras de IgG.⁵⁶

Consecuentemente se ha discutido un mecanismo de desmielinización basado en la citotoxicidad mediada por anticuerpos y complemento. No obstante, la significancia patológica de los anticuerpos anti-mielina permanece en duda, ya que se han encontrado altos títulos de estos anticuerpos en perros con lesiones resueltas. Además, se sospecho de esta citotoxicidad ya que se encontraron muchas células T en la lesión y perivascularmente. Una declinación de la producción de anticuerpos intratecales se correlacionó con el mejoramiento clínico y se sugirió, que la respuesta inmune humoral era perjudicial en vez de benéfica. Hasta el momento pocos estudios han investigado la respuesta inmune humoral, en encefalitis del distemper. En la encefalitis crónica las células CD3+, a menudo carecen de la expresión del marcador CD5+, dominando los infiltrados intralesionales perivasculares en presencia de una

expresión pronunciada de citocinas Th2. Para investigar más el papel de la respuesta inmune humoral en la patogénesis de la desmielinización del distemper se estudiaron las similitudes intracerebrales, en las concentraciones de células CD4+, CD8+ y B. ⁵⁶

La inmunidad citotóxica mediada por linfocitos (ICML) se evaluó en perros después de la exposición intranasal a las siguientes tres cepas virulentas de virus del distemper canino: Cornell A75/17, Ohio R252, y Snyder Hill. La citotoxicidad se probó con linfocitos de sangre periférica como las células efectoras y primero células de testículo de perro que se igualaron para histocompatibilidad como células designadas. Una correlación fuerte se encontró entre ICML y el curso de la infección. Perros que sucumbieron a la encefalitis con cualquiera de las cepas tenían poco o ningún ICML, considerando que perros que se recuperaron tenían la actividad más alta. Las respuestas de ICML iniciaron el día 14 post-infección (P.I.), alcanzando un nivel máximo al día 21 a 28 días P.I., y regresando a los niveles de preinoculación en el día 63 a 70 p.i. en los perros infectados con las cepas A75/17 y R252 del virus de moquillo canino. En contraste, en perros infectados con Snyder Hill la ICML inició los días 10 días P.I., alcanzando un máximo a los 14 a 17 días P.I., llegando a los niveles preinoculación al día 28 días P.I. La inmunidad antiviral medida por ICML parece ser un factor crítico en la determinación en el desencadenamiento de la infección. Además, para ciertos biotipos virales una respuesta retardada de ICML se correlaciona con una infección persistente del sistema nervioso central. Además, las cepas R252 o A75/17 pueden inducir infección persistente sin señales clínicas de enfermedad en SNC. Así, el resultado de la infección depende de factores virales y factores del hospedero ⁶



Un factor crucial que limita la cobertura del virus es la respuesta inmune. En el moquillo canino, se ha encontrado una correlación entre la supervivencia y la capacidad de perros para producir VMC anticuerpos neutralizantes. Sin embargo, la actividad inmune humoral y celular es importante para la resistencia eficaz a las enfermedades virales ⁶

Se ha demostrado que los perros vacunados con el VMC atenuado montan una respuesta citotóxica mediada por linfocitos específica al virus, con células de testículo de perro infectadas con VMC marcada con cromo. Usando este mismo sistema, también se ha reportado una fuerte correlación entre la supresión de la ICML y la infección fatal o persistente de perros expuestos al VMC virulento.

Los niveles de duración de ICML dependieron de la progresión clínica de enfermedad y la cepa de VMC. Los perros que se recuperaron y tenían lesiones de SNC mínimas, montaron respuestas de ICML mayores que aquellos que sucumbieron a la infección. De seis perros infectados con A 75/17 han tenido ninguna o niveles bajos o respuesta de ICML el día 21 P.I., tres perros estaban moribundos entre los días 22 y 32 P.I. Un perro que estuvo moribundo en el día 42 P.I. tenía respuestas de ILMC bajas en días 14, 21, 28, y 42 p.i.

En un perro clínicamente estable en donde se desarrolló encefalitis desmielinizante inflamatoria, se encontraron niveles bajos de ICML en días 28,35, y 56 P .I., cuando fue eutanasiado. Un perro desarrolló un mioclono facial en el día 35 P.I. pero se mantuvo clínicamente estable; empezó a responder en el día 28 y tuvo niveles incrementados de ICML en el día 49 P.I., .Dos perros infectados con la cepa R252

TESIS CON
FALSA PROMISGEN

estuvieron moribundos a los días 28 y 31 P.I. y tres perros infectados con la cepa SH estuvieron moribundos los días 12 y 17 P.I. no tuvieron una ICML medible.

Perros que se estabilizaron después de la infección con las cepas que causan encefalomiélitis retardada (A75/17 y R252) tuvieron respuesta ICLM que se mantuvo significativamente más baja que aquellos detectados en los sobrevivientes a la infección con la cepa Snyder Hill. Seis perros que se mantuvieron clínicamente estables de 2 a 3 semanas P.I. tuvieron respuestas de ICML iniciales en día 14 P.I.; los niveles máximos ocurrieron en día 21 P.I., seguidos por una declinación gradual hacia el día 70 P.I., cuando los niveles alcanzaron a los valores preinoculación. Similarmente, cuatro de seis perros inoculados con la cepa R252 que se recobraron clínicamente desarrollaron el máximo de ICML el día 28, con declinación gradual hacia el día 63 P.I. momento en el que llegaron a los valores preinoculación. En contraste, cuatro perros infectados con la cepa SH que se recobraron clínicamente de 2 y 3 semanas p.i. tuvieron respuestas de ICML que iniciaron en el día 10 p.i., alcanzando su pico los días 14 y 17, reduciéndose en el día 21 y alcanzando niveles preinoculación en el día 28 p.i. ⁶

La reacción inflamatoria en las lesiones de desmielinización pueden llevar a la progresión del daño tisular y a menudo hay una franca necrosis. El estado crónico de la enfermedad esta caracterizado por complicaciones inmunopatológicas. La inflamación es asociada con la síntesis de inmunoglobulinas intratecales, basado en la cuantificación de estas inmunoglobulinas en el líquido cefalorraquídeo lo cual refleja una respuesta inflamatoria, severa, encontramos que la intensidad de la respuesta inflamatoria disminuyó gradualmente en muchos perros infectados experimentalmente, estos perros mejoraron clínicamente, sin embargo la inflamación siguió un curso

PERROS CON
FALLA DE ORIGEN

progresivo con empeoramiento de los signos, aún se siguen realizando esfuerzos para caracterizar la respuesta inmune intratecal⁵⁵

Basado en los experimentos con radicales, se ha pensado que estos radicales hidroxilados altamente tóxicos están involucrados en el daño celular. Los radicales hidroxilos son producidos en una reacción tipo Fenton en los cuales los iones hierro juegan un papel catalítico. Se cree que esto de que los oligodendrocitos son ricos en compuestos con hierro, en particular la transferrina, podría hacer estas células particularmente vulnerables a los ataques de radicales de oxígeno.⁵⁶

Los anticuerpos antivirales activan la generación de radicales oxígeno reactivo (ROS) en cultivos de células infectadas con distemper canino. El ROS podría dañar células no infectadas como los oligodendrocitos.¹

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

El estudio de la respuesta inmune de moquillo canino se debe a la importancia que ha cobrado la enfermedad al ser de mayor frecuencia, distribución y daño ocasionado por el virus de moquillo canino.

En la actualidad afecta a un gran numero de familias: *Canidae*, *Mustelidae*, *Procyonidae*, *Viverridae*, *Pinnipedia*, *Ursidae* y *Hiaenidae*. A partir de los 90s, también la familia *Felidae*.

Por lo tanto las investigaciones se han enfocado de manera particular hacia el estudio de la respuesta inmune para lograr proteger a las especies susceptibles al VMC. El estudio se enfoca primero en las proteínas del virus, que son factores importantes para que el VMC penetre y cause la enfermedad, ya que la proteína de la nucleocápside (N) es importante para que el virus persista, la proteína M es importante en la maduración, la F facilita la diseminación del virus entre las células y la H con la actividad neuramidasa es importante para la liberación de las partículas virales de la célula.

Hasta la fecha, se sabe que los animales que sobreviven a la infección por VMC son probablemente inmunes de por vida pero esto depende de la buena respuesta inmune del hospedador, la edad, así como la virulencia y cepa del virus. Esto nos lleva a comprender la importancia de investigar los mecanismos de evasión del sistema inmune utilizados por el VMC. Lo anterior ha desencadenado la elaboración de nuevas vacunas en base a la respuesta del hospedador ante diferentes antígenos como lo es en vacunas recombinante de canario con vector pox que expresa antígenos H y F o las vacunas de DNA.

La comprensión profunda de la respuesta inmune hacia el VMC nos llevara a lograr una mejor protección de animales domésticos y fauna silvestre susceptible, lo cual involucra a especies en peligro de extinción.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFÍA

1. Alleman, A.; Christopher, M.; Steiner, D. and B. Homer.(1992).Identification of intracytoplasmic inclusion bodies in mononuclear cells from the cerebrospinal fluid of a dog with canine distemper. *Veterinary Pathology*, 29(1):84 - 85.
2. Appel M.J and B. A Summer Recent Advances in Canine Infectious Diseases, Carmichael L. (Ed.) Ithaca: International Veterinary Information Service, 1999; Canine Distemper: Current Status,James A. Baker Institute for Animal Health, College of Veterinary Medicine. Cornell University. Ithaca. New York. USA. *internet*
3. Appel, M.J , RA Yates, GL Foley, JJ Bernstein, S Santinelli, LH Spelman, LD Miller, LH Arp, M Anderson, M Barr, S Pearce-Kelling, BA Summers.1994. Canine distemper epizootic in lions, tigers, and leopards in North America *Journal of Diagnostic Investigation* , 6:(3), 277-288;32.
4. Appel, M.J BA Summers.1995. Pathogenicity of morbilliviruses for terrestrial carnivores *Veterinary Microbiology*, (26) 44:2-4, 187-191.
5. Appel, M.1987.Virus Infection of Vertebrates (carnivores) series. Volumen 1. *Editorial Elsevier*.
6. Appel,M.; Shek, W. and Brian S.1982.Lymphocyte-mediated immune cytotoxicity in dog infected with virulent canine distemper virus. *Infection and Immunity*, 37(2), 592-600.
7. Bar-lev, L.; Greenberg, M.; Gershoni, J. and Shmuel R.1995.The hemagglutinin envelope protein of canine distemper virus (CDV) confers cell tropism as illustrated by CDV and measles virus complementation analysis. *Journal of Virology*. 69(3), 1661-1668.
8. Bixenkron, M.; Svansson, V.; Have, P.; Grvell, C.; Apell, M.; Pedersen, R.; Henrik, H. and Per, H.1993.Studies on manifestations of canine distemper virus infection in an urban dog population. *Veterinary Microbiology*. 37(1-2), 163-173.
9. Beer, J.1987.Infecciones de los Animales Domésticos. Tomo 1. *Editorial Acriba*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

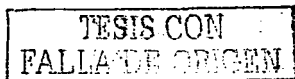
10. Bell, S.; Carter, S. and D. Bennet.1991.Canine distemper viral antigens and antibodies in dogs with rheumatoid arthritis. *Research in Veterinary Science.* 50(1):64-68.
11. Bürge, T.; Griot, C.; Vandevelde, M. and E. Peterhans.1989.Antiviral antibodies stimulate production of reactive oxygen species in cultured canine brain cells infected with canine distemper virus. *Journal of Virology*, 63(6), 2790-2797.
12. Carranza, P.(1998). Evaluación inmunológica de cachorros caninos frente a enfermedad de carré mediante la utilización de la prueba de fijación del complemento directa. *FES-C. UNAM. México.*
13. Craig, E. Greene.1998.Enfermedades Infecciosas en Perros y Gatos. Segunda edición. *McGraw-Hill Interamericana*
14. Court, L. A. 1982. Aspectos Generales del Complejo Distemper en Caninos. *Mono. Med. Vet.*, 4(2), 18-28.
15. Cherpillod, P.; Beck, K.; Zurbriggen, A and Riccardo W. 1999.Sequence analysis and expression of the attachment and fusion proteins of canine distemper virus wild-type strain A 75/17. *Journal of Virology*. 73 (3), 2263-2269.
16. Cherpillod, P; Tipol, A ;Griot-Wenk, M; Cardozo, C; Schmid, I; Fatzer, R; Schobeberger, M; Zurbriggen, R; Bruckner, L; Roach, f; Vandevelde ,M; Wittek, R. and Andreas Z. 2000. DNA vaccine encoding nucleocapsid and surface proteins of wild type canine distemper virus protects its natural host against distemper. *Vaccine*.18 (26), 2927-2936.
17. Delgado, C. Estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR), histología de las glándulas paratiroideas, determinación de calcio (Ca), fosfatasa alcalina (FAS) y creatininfosfocinasa (CPK) en perros afectados por moquillo canino. *FMV. UNAM. México.*
18. Ettinger, S.; Felman, E.1995.Textbook of Veterinary Internal medicine. Diseases of the dog and cat .Volumen 1.Editorial *W.S Saunders.*
19. Frenner, F.; Bachmann, P y E.Gibbs.1987. *Virología Veterinaria .Editorial Acribia.*
20. Frolich K., Czupalla O., Haas L., Hentschke J., Dedek J., and Fickel J. .2000. Epizootiological investigations of canine distemper virus in free-ranging carnivores from Germany. *Veterinary Microbiology*.74 283-292.
21. Gómez, J. C; Carrasco, L.; Quezada, M; Toledo, M. V y Miguel A. S. 1990.Encéfalomielitis crónica en perros adultos con distemper, detección del antígeno viral en médula espinal. *Veterinaria México*. 21 (4) ,429-433.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

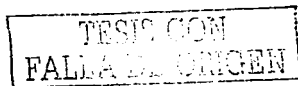
22. Gorman, N.T.1983.The interaction of cells persistently infected with canine distemper virus with antiviral antibody and complement. *Cellular Immunology*.77(2),242-248
23. Gossett, K.A; Mac Williams, P. and Robert F.1982.Viral inclusions in hematopoietic precursors in a dog with distemper. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 181 (4), 387-388.
24. Haas, L., Martens, W., Greiser-Wilke, I., Mamaev, L., Barrett, T. 1998. Genetic analysis of the Haemagglutinin gene of current wild-type canine distemper virus isolates. *Virus Res*. 48, 165-171.
25. Hernández, A.1987. Distemper canino : Estudio recapitulativo. *FMVZ. UNAM*.
26. Hirk, O and Yuan Chung.1999.Veterinary Microbiology. *Blackwell Science*.
27. Howard, J. M ; Eckert, B.S and Lilly Y.1983. Comparison of cytoskeletal organization in canine distemper virus-infected and uninfected cells. *Journal of General Virology*. 64(11), 2379-2385.
28. kai, Ch.; Ochikubo, F.; Okita, M.; linuma, T.; Mikami, T.; Kobune, F. and Kasuya, Y. 1993. Use of B95a cells for isolation of canine distemper virus from clinical cases. *J. Vet. Med. Sci*. 55 (6), 1067-1070 .
29. Leib, M. and William, M. 1997.Practical Small Animal Internal Medicine. *W.S Saunder* .
30. Liermann, H.; Harder, T. C.; Löchelt, M.; von Messling, V. ; Baumgartner, W.; Moennig, V. and Haas, L.1998. Genetic analysis of the central untranslated genome region and the proximal coding part of the F gene of wild-type and vaccine canine distemper morbilliviruses. *Virus Genes* .17, 259-270.
31. Löffler, S.; Lottspeich, F.; Lanza, F.; Azorsa, D.; Ter Meulen, V. and Jürgen Schneider. 1997. CD9, a tetraspan transmembrane protein, renders cells susceptible to canine distemper virus. *Journal of Virology*. 71 (1), 42-49.
32. Meissner, N. and Klaus K.1995. Downregulation of endothelin receptor mRNA synthesis in C6 rat astrocytoma cells by persistent measles virus and canine distemper virus infections. *Journal of Virology*. 69 (8), 5191-5194.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

33. Messling, V; Harder, T, C; Moennig, V; Rautenberg, P; Nolte, I. And Ludwing, H.1999. Rapid and sensitive detection of immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies against canine distemper virus by a new recombinant nucleocapsid protein-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of clinical microbiology* .37 (4) 1049-1056.
34. Mori, T.; Shin, Y.; Okita, M.; Hirayama, N.; Miyashita, N. ;Gemma, T.; Kai, Cheiko and Takeski, M.1994.The biological characterization of field isolates of canine distemper virus from Japan. *Journal of General Virology*. 75 (9), 2403-2408.
35. Murphy, F.;Gibbs E.P.; Horzinek, M and Micharel ,S. 1999.Veterinary Virology. Third edition. *Academic Press*.
36. Myers, L.J.; Hanrahan, L.A.; Swango, L. J. and K.E. Nusbaun. 1988. Anosmia associated with canine distemper. *American Journal of Veterinary Research*. 49(8), 1295-1301.
37. Norrby, E.;Utter, G.; Örvell, C. and Max, A.1997. Protection against canine distemper virus in dogs after immunization with isolated fusion protein. *Journal of Virology*. 58 (2), 536- 541.
38. Oglesbee, M.; Liu, Zheng; Kenney and Charles L.1996.The highly inducible member of the 70 kDa family of heat shock proteins increases canine distemper virus polymerase activity. *Journal of General Viral*.77 (9), 2125-2135.
39. Pardo, C; DVM; Bauman,J. and Marc M.1997. Protection of dogs against canine distemper by vaccination with a canarypox virus recombinant and hemagglutinin glycoproteins. *AJVR*. 58 (8). 833-836.
40. Parra, R. y Fabiola R. 1994. Empleo de un extracto leucocitario crudo (ELC) como tratamiento en la presencia de signos clínicos de moquillo canino. *FESC. UNAM. México*.
41. Pérez, S.1991.Estudio del virus del distemper (moquillo canino) en cultivos celulares para evaluar su capacidad hemoadsorbente, hemoaglutinante y producción de efectos citopatogénicos. *FMVZ. UNAM*.
42. Povey, Charles. 1986. Distemper vaccination of dog: Factors which could cause vaccine failure. *Canadian Vetennary Journal*.27 (9) 321-323.
43. Pringle, C.R.1999. *Virus Taxonomy*. *Archives Virology*.144/2, 421-429.
44. Reyes, S.2001.Elaboración de un conjugado inmunofluorescente para el diagnostico del moquillo canino. *FESC. México*.
45. Rimma B. K; Baczko, K.; Imagawa, D.T and V. Ter Meulen. 1987. Humoral immune response in dog with old dog encephalitis and chronic distemper meningo-encephalitis. *Journal of General Virology*. 68 (6), 1723-1735.



46. Rima, B.K.; Cosby, S.L.; Duffy, N.; Lyons, C. and D. O'loan. 1990. Humoral immune response in seals infected by phocine distemper virus. *Research in Veterinary Science*. 49 (1), 114-116.
47. Rima, B.K.; Duffy, N.; Mitchell, W.J.; Summers, B.A and M.J.Appel.1991. Correlation between humoral immune responses and presence of virus in the CNS in dogs experimentally infected with canine distemper virus. *Archives of Virology*. 121(1-4), 1-8.
48. Ringler, S. and Krakowka, S. 1985.Effects of canine distemper virus on natural killer cell activity in dog. *American Journal of Veterinary Research*. 46 (8), 1781-1786.
49. Rzezutka A. and Mizak B. 2001. Distemper virus -its structure and genetic mechanisms of replication vol. 57 (12), 857-936, 2001, pages 870-873. *internet*
50. Rude, Theodore. 1987. Canine distemper virus: Infection and Prevention. *Canine Practice*. 14(3), 15-24.
51. Schmid, E.; Zurbriggen, A.; Gassen, U.; Rima, B.; Ter Meulen, V. and Jurgen Scheiner. 2000. Antibodies to CD9, a tetraspan transmembrane protein, inhibit canine distemper virus-induced cell-cell fusion but not virus-cell fusion. *Journal of Virology*. 74 (16), 7554-7561.
52. Sixt, N; Cardoso ,A; Vallier, A; Fayolle, J; Burckland R. and Fabian Wild.1998. Canine distemper virus DNA vaccination induces humoral and cellular immunity and protects against a lethal intracerebral challenge. *Journal of Virology*. 72 (11), 8472-8476.
53. Soma, T.; Ishii, H.; Hara, M.; Yamamoto, S.; Kinoshita, T. and K. Nomura.2001. Comparison of immunoperoxidase plaque staining and neutralizing test for canine distemper virus. *Vetennary Research Communication*. 25 (4), 311-325.
54. Stettler, M; Beck, K; Wagner, A; Vandevelde, M and Andreas ,Z.1997 .Determinants of persistence in canine distemper viruses. *Veterinary Microbiology* . 57 (1) 83-93.
55. Valdevelde, M. and A. Zurbriggen .1994. The neurobiology of canine distemper virus infection. *Veterinary Microbiology*. 44, 271-280.
56. W.G. Marco van de Bildt, Thijs Kuiken, Aart M. Visee, Sangito Lema, Tony R. Fitzjohn and Albert O.M.E. Osterhaus .2000.Distemper Outbreak and Its Effect on African Wild Dog Conservation. *Journal National Center for Infectious Diseases. Center for disease control and prevention*. *internet*



57. Williams, B. AFIP Wednesday Slide Conference No. 4 .October -1995
Department of Veterinary Pathology, *Armed Forces Institute of Pathology*.
Washington, D.C. (202) 782- 2615
58. Wünschmann, A; Alldinger, S; Kremmer, E and W. Baumgartner.1999.
Identification of CD4 + and CD8+ T cell subsets and B cell in the brain of dogs with
spontaneous acute subacute, and chronic demyelinating distemper encephalitis.
Veterinary immunology and immunopathology. 67 (2) 101-116.
59. Wünschmann, A; Kremmer, E. and W.Baumgartner.2000. Phenotypical
characterization of T and B cell areas in lymphoid tissues of dogs with spontaneous
distemper. *Veterinary immunology and immunopathology*. 73 (1), 83-98.
60. Zurbriggen, A.; Ulrich, H.; Wagner, A. and Marc V.1995.Canine distemper virus
persistence in the nervous system is associated with noncytolytic selective virus
spread. *Journal of Virology*. 69(3), 1678-1686.
61. Yoshida, E.; Shi, Y.; Iwatsuki ,K.; Gemma, T.; Miyashita, N.; Tomonaga, K.
;Hirayama, N; Mikami, t. and Chieko K.1999. Epitopes and nuclear localization
analyses of canine distemper virus nucleocapsid protein by expression of its deletion
mutants. *Veterinary Microbiology*. 66(4), 313-320.
62. Iwatsuki, k.; Tokiyoshi, S.; Hirayama, N.; Nakamura, k.; Ohashi, K; Wakasa, Ch.
and Takeshi, M. Chieko Kai .2000. Antigenic differences in the H proteins of canine
distemper Hviruses. *Veterinary Microbiology*. 71(3-4) 281-286.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN