

62
2e)



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

Diagnóstico etiológico en canidos de dos a ocho meses de edad sospechosos de parvovirus canina, mediante la prueba de homeaglutinación en heces y su correlación con biometría hemática.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A N
LETICIA MARTINEZ MORALES
ANGEL FABRICIO VELEZ GOMEZ †

ASESOR: MVZ LUCIA A. GARCIA CAMACHO
COASESOR: MVZ RAFAEL TELLEZ GIRON
COASESOR: MVZ MIGUEL ANGEL SOTO PEREZ



V N A M

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN N. A. M.
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR FACULTAD DE ESTUDIOS
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES SUPERIORES-CUAUTITLÁN



DEPARTAMENTO DE
EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

" Diagnóstico etiológico en conejos de dos a ocho meses de edad sospechosa de parvovirus canino ,mediante la prueba de hemaglutinación en heces y su correlación con biometría hemática."

que presenta lo pasantes Leticia Martínez Morales.

con número de cuentas: 8414343-1 para obtener el TÍTULO de:
Médico Veterinario Zootecnista.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 10 de febrero de 1994

PRESIDENTE	M.V.Z. Carlos García Alcaraz
VOCAL	M.C. Rita del Castillo Rodríguez
SECRETARIO	M.V.Z. Lucía García Canucho
PRIMER SUPLENTE	M.C. Alejandro Martínez Rodríguez
SEGUNDO SUPLENTE	M.V.Z. Víctor Quintero Ramírez

FABRICIO:

Este trabajo representa para los dos un anhelo ahora a punto de realizarse, yo se que donde quiera que estés, podrás estar contento por la labor cumplida, agradezco infinitamente tu colaboración pero lo que más valoro es haber tenido la oportunidad de conocer a un ser tan maravilloso como tú, creeme que dejaste en mí la más grande enseñanza de la vida.

"LA AMISTAD PURA".

A MIS PADRES.

Que con el ejemplo y su apoyo han guiado mi formación como estudiante y ser humano, con el fin de ver en mí, a una profesionalista y una mujer útil a la sociedad.

A MIS HERMANOS.

Víctor, Alvaro, Andrés, Patricia, Sandra, Jorge y Meche, por el ejemplo de superación y constancia que me han brindado.

A MIS PRECIOSOS SOBRINOS.

Paco, Alvarito, Yareni, Andrésito, Monse, Yamel, y al pequeño Víctor Iván porque es maravilloso verlos crecer.

A MIS CUNADAS ADRIANA, SILVIA MARY CARMEN, Y CONCHITA.

Por compartir su vida con mis hermanos.

A ENRIQUE HERNANDEZ.

Por ser un gran hombre.

A MI TIA MATY.

Por el tiempo, apoyo y cariño que siempre he recibido de ella.

A MI PRIMA ADRIANA.

Por el ejemplo de superación que como mujer representa para mí.

A LA FAMILIA VELEZ GOMEZ.

Con todo respeto y cariño por todo el apoyo hacia su hijo para permitirle cumplir una meta más en su vida, que estoy segura, brinda a ustedes, con todo su amor

CON MUCHO CARINO Y RESPETO
AL MVZ. ARTURO TAMARIZ.

Por todo el apoyo y comprensión que siempre ha tenido conmigo, por la oportunidad que me dio de conocer el trabajo en la clínica de Pequeñas Especies y sobre todo por permitirme conocerlo.

AL MVZ. IGNACIO VALDES CABARAS.

Por la gran oportunidad que me dió de colaborar con él, por su comprensión y ejemplo que como persona y médico significa para mí.

AL MVZ. ARTURO MARTINEZ M.

Por ser un gran médico, en señarme tantas cosas y sobre todo por el apoyo que siempre me ha brindado.

A NUESTRA QUERIDA ASESORA.
MVZ. LUCIA ANGELICA GARCIA
CAMACHO.

Por su gufa y apoyo para la realización de este trabajo, sobretodo por su paciencia y ejemplo de profesionalismo y ética.

A LOS LABORATORIOS
BIOTELL, S.A. Y AL MVZ.
RAFAEL TELLEZ GIRON.

Por permitirnos realizar nuestro trabajo en sus instalaciones.

AGRADEZCO ESPECIALMENTE AL
MVZ. MIGUEL ANGEL SOTO PEREZ

Por su valiosa colaboración
y apoyo para la elaboración de
esta tesis.

AL BIOLOGO FERNANDO GUADARRAMA

Por su intervención tan impor-
tante en la parte experimental
de este trabajo.

MUY ESPECIALMENTE A IGNACIO
RANGEL RODRIGUEZ.

Por todo el apoyo para la
realización de esta tesis, y
sobretudo por su amistad.

AL MVZ. RUBEN TREJO

Por su colaboración
en este trabajo.

AGRADEZCO DE TODO CORAZON AL
MVZ. FERNANDO LOZANO Y SRITA.
GEORGINA RODRIGUEZ.

Por su colaboración en la
parte experimental de esta
tesis y sobretudo por el
apoyo incondicional a
Fabricio.

A MI QUERIDA AMIGA ADRIANA P.V.

Por su valiosa participación
y la paciencia de haber escrito
este bello trabajo, y lo más
importante por su amistad.

A MIS GRANDES AMIGOS FERNANDO
OSCAR, LOLITA, LUPITA, GRACIE
LA Y NORMA.

Por todo el cariño que siem-
pre me han brindado.

"SOY RICO POR LO QUE SE ENCUENTRA DENTRO DE MI, MIS DESEOS SE CON-
VERTIRAN EN REALIDADES POR MEDIO DE LA REPETICION Y CONSTANCIA....."

RESUMEN.

La gastroenteritis hemorrágica ocasionada por parvovirus es una enfermedad que ha sido motivo de múltiples investigaciones, pues representa una infección común que provoca graves daños y en muchas ocasiones la muerte debido a las complicaciones generadas provocando repercusiones económicas importantes. Se afectan todas las edades pero los cachorros menores de un año son los más susceptibles. La enfermedad se difunde por medio de heces infectantes y puede ser diagnosticada a través de estas.

Con el propósito de realizar el diagnóstico por laboratorio de la parvovirus canina, como corroborar la presencia de animales portadores sanos y correlacionando los cambios hemáticos, provocados por la infección. Se muestrearon 53 perros de 2 a 8 meses de edad con manifestación clínica sugestiva de la enfermedad para su realización de pruebas como hemoaglutinación en heces y biometría hemática. Los resultados obtenidos fueron comparados con los de un grupo control constituido de 50 animales clínicamente sanos, mediante métodos estadísticos descriptivos y prueba de Tukey. Simultáneamente se valoró y relacionó la respuesta inmune del grupo experimental con los títulos hemoaglutinantes a partir de heces mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación realizada en animales seleccionados al azar.

Se encontró que el 49% (26) de los animales enfermos resultó positivo y el 51% (27) fueron negativos a parvovirus y que ambos grupos presentaron leucopenia, linfopenia y neutropenia

sin existir diferencia estadística representativa entre ellos pero si con respecto al grupo control. No se detectaron cambios significativos de la serie eritrocítica entre grupos.

Debido al alto porcentaje (51%) de animales enfermos negativos y las nulas diferencias clínicas y hematológicas se aprecia la necesidad de realizar rutinariamente un diagnóstico integral de la enfermedad mediante las pruebas descritas e investigar sobre la participación de otros patógenos entéricos.

La presencia de animales portadores sanos obliga que las medidas aplicadas en un programa de vacunación se implementen en forma oportuna, siendo la prueba de Inhibición de la hemoaglutinación de gran utilidad para lograrlo.

INDICE

INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	13
MATERIAL Y METODOS	14
RESULTADOS	18
DISCUSION	34
CONCLUSIONES	43
RECOMENDACIONES	44
BIBLIOGRAFIA	47

INTRODUCCION

En el ejercicio clínico en canideos, uno de los sistemas del organismo más afectado es el digestivo, que con sus órganos accesorios realizan funciones vitales como la digestión y absorción de nutrientes, además de la conservación de agua. Cuando existe desequilibrio en los mecanismos de homeostasis se favorece la colonización por agentes patógenos que pueden desencadenar gastroenteritis; afección del tracto digestivo que involucra al estómago e intestino principalmente. Clínicamente se manifiesta como vómito y diarrea variable, además de fiebre, deshidratación y postración en casos graves. La severidad de los signos dependerá de los agentes etiológicos involucrados, dentro de los cuales destaca el Parvovirus canino (23,49).

La parvovirus canina ha sido motivo de múltiples investigaciones, pues representa una infección común que provoca graves daños en el animal y en muchas ocasiones la muerte debido a las complicaciones generadas por la infección del virus. - provocando repercusiones económicas importantes.

La enfermedad es relativamente nueva, su origen aparentemente fué en el año de 1977, (18). Otro autor menciona que los miembros del género parvovirus se conocen desde 1950 (51). En 1970, se logró el primer aislamiento de un parvovirus en perros. Los autores denominaron al aislamiento con las siglas MVC, que en Inglés corresponden a los términos minute virus of canine (virus diminuto de los caninos). Se considera que es un agente apatógeno y se sabe que es distinto al parvovirus canino responsable de los brotes de enteritis viral que surgieron en 1978:

(51) experimentalmente la reproducción de la enfermedad fué posible en 1980 inoculando intravenosamente 1000 unidades hemaglutinantes de parvovirus a cachorros criollos de 4 semanas de edad.(18).

Se debe señalar sin embargo que la reproducción experimental de la miocarditis parvoviral no ha sido posible (44,48,50). Oralmente la reproducción de la enfermedad la realizó Potgieter en 1981, al inocular 5 perros criollos con 10,000 dosis infectantes de cultivo celular DICC/ml de parvovirus canino, obteniendo cuadros clínicos similares a los observados en forma natural.(8,15,17,36).

Las epizootias de enteritis hemorrágica y miocarditis asociadas con parvovirus fueron diagnosticadas por primera vez en los Estados Unidos en 1978 (18,20,22), a partir de ese año se informó que la distribución de esta enfermedad era mundial, motivo por el que probablemente se ha diagnosticado clínicamente con más frecuencia en diversas partes del mundo.(18,20,47)

El virus se encuentra en el medio ambiente, en zonas endémicas, entra por vía oral y nasal y en el organismo el virus se multiplica principalmente en las células linfoides de las tonsilas y nódulos linfoides; posteriormente 4 a 5 días post-infección se presenta la viremia y el virus continúa replicándose en células epiteliales de las criptas del intestino delgado(14, 24,47,51).

El periodo de incubación varía entre 7 y 14 días, el curso de la enfermedad es en promedio de 2 a 5 días pero puede extenderse hasta los 10 días presentándose como signos clínicos frecuentes vómitos y diarreas hemorrágicas profusas, con gran cantidad de moco. Estas manifestaciones se acompañan de fiebre (14,24,43,47), depresión, anorexia, postración y posteriormente deshidratación severa, hasta que el animal se recupera o muere, debido al déficit hidroelectrolítico (13,17,22,51).

Se afectan todas las edades, pero los cachorros menores de un año son los más susceptibles, produciendo una morbilidad del 100% y una mortalidad del 20% al 100%. En estos animales la muerte súbita puede ocurrir en las primeras 12-24 horas después de manifestarse el cuadro clínico debido a una severa necrosis multifocal en miocardio con infiltración linfocitaria y la presencia de cuerpos de inclusión (43,48,49).

En muchos animales, el cuadro no es tan severo pueden durar hasta 6 días enfermos, algunos mueren y otros se pueden recuperar. En los que mueren encontramos lesiones descritas en la necropsia.

La enfermedad se difunde a través de heces infectantes, por este motivo es frecuente en sitios donde existe una elevada concentración de población canina, la mortalidad puede variar mucho dependiendo de diversos factores como el hacinamiento, edad, resistencia y presencia de otras enfermedades (parasitosis, bacteremias, etc.) (13,22,47,49).

El diagnóstico clínico se establece mediante una historia o antecedentes de anorexia, depresión severa, vómito y diarrea hemorrágica, combinada con elevación de temperatura, es conveniente cuando el animal muere realizar la necropsia, aunque los hallazgos no son muy específicos se pueden encontrar restos de vómito en cavidad oral y heces diarreicas en el recto, enteritis en yeyuno e ileón, por segmentos, los que están flácidos y con hemorragias, mucosas de intestino congestionada, ganglios mesentéricos aumentados de tamaño y edematosos, en el timo de los cachorros hay necrosis cortical y atrofia. En los casos de muerte repentina por miocarditis hay aumento de volumen y necrosis manifiesta por estrias blanquecinas(24,47,50). A la histopatología las lesiones en intestino delgado se observa en células en proliferación, encontrándose desde una inflamación mucosa moderada hasta una enteritis hemorrágica difusa severa, inicialmente hay necrosis del epitelio de las criptas del intestino delgado, las cuales están dilatadas, cubiertas de células inmaduras, con restos celulares necróticos y atrofia de vellosidades. En las placas de Peyer, centros germinales de los ganglios linfáticos mesentéricos y en los nódulos esplénicos hay necrosis y disminución de linfocitos. En el músculo cardiaco hay miocarditis no supurativa con infiltración linfocitaria, edema y pérdida de miofibrillas (18,22,23,51).

En los animales vivos que son remitidos a la clínica debemos apoyarnos en el laboratorio, realizando determinaciones hemáticas, en este caso la biometría hemática es útil debido a que la mayoría de los animales muestran una leucopenia marcada

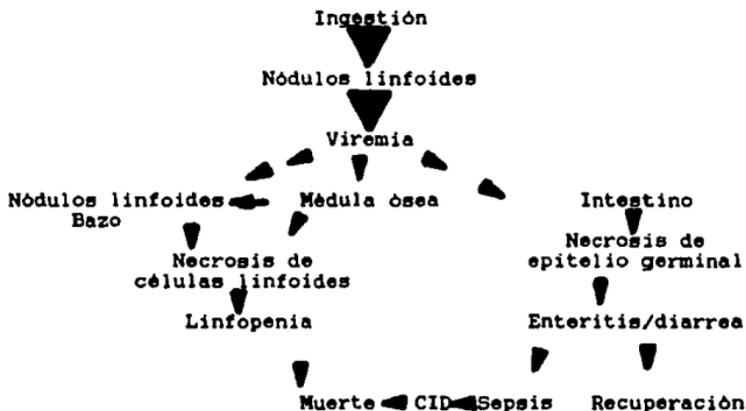
(3,33,52). Esta leucopenia es evidente en los estados iniciales de la enfermedad. A nivel clinico lo más frecuente es encontrar de 2000 a 4000 globulos blancos/ul.(18,34,41,49).

Experimentalmente se han registrado cuentas menores de cien glóbulos blancos/ul, pero los más frecuentes es encontrar de 300 a 3000/ul. durante el principio y el climax de la enfermedad.

La disminución de los neutrófilos maduros circulantes está promovida por la gran pérdida de los mismos a través de la pared entérica lesionada. El alcance de la leucopenia puede ser proporcional a la intensidad de la enfermedad clinica y una elevación en el recuento es una clara señal de recuperación inminente. (18,34,41,47,49,52).

Se puede hacer un frotis rápido y se tinte con Wright para determinar el conteo diferencial de leucocitos, encontrando linfopenia por la depleción que se produce en la infección por parvovirus (15,18,22,23,25,38). El valor del hematocrito es notablemente elevado y el valor de las proteínas plasmáticas es variable dependiendo el estado de hidratación del animal (38,40,41).

La patogenesis de la enfermedad puede resumirse en el siguiente cuadro:



(48,49).

Por lo anteriormente descrito es muy importante obtener un diagnóstico etiológico adecuado debido a que la mayoría de las ocasiones los animales que presentan cuadros de gastroenteritis hemorrágica, se diagnostican clínicamente como parvovirus siendo que muchos de estos casos pueden ser ocasionados por otros agentes tales como Coronavirus, Rotavirus, Salmonella spp., Campylobacter jejuni, Clostridium spp y Escherichia coli, parásitos intestinales, Ancylostoma caninum, Isoospora spp y Giardia spp. (6,7,12,14,18,19,21,23,24,28,29,32,53).

El coronavirus canino, es una enfermedad contagiosa aguda de los perros causada por un virus epiteliotrópico que invade con preferencia a los enterocitos de las puntas vellosas. La destrucción, atrofia y fusión vellosa resultantes inducen diarrea de grado variable la sintomatología es la presentación aguda de

anorexia y depresión seguida por vómito y diarrea, la cual varía desde un color anaranjado amarillento de consistencia acuosa a francamente hemorrágica, puede haber aumento del moco fecal y el olor muchas veces es fétido por lo tanto esta enfermedad deberá ser considerada en los animales que presentan una gastroenteritis aguda, del mismo modo que el Rotavirus canino, cuyo agente se replica con exclusividad en los enterocitos maduros de la punta vellosa, donde causan el aplanamiento de los vellos, que son poblados principalmente con células secretoras inmaduras derivadas de las criptas. Desde el punto de vista clínico, el Rotavirus no es un enteropatógeno de importancia superlativa en el perro; los síntomas de la enteritis aguda se manifiesta en cachorros jóvenes manifestando una diarrea que puede ser de acuosa a hemorrágica. En general es autolimitante y de corta duración aunque puede haber casos fatales pero éstos son raros el diagnóstico se realiza por la detección del virus en las deposiciones mediante análisis inmunoenzimáticos, microscopía electrónica o aislamiento viral (3,18,19,24,49). La salmonelosis es transmitida por la ruta coprobuca, principalmente mediante la ingestión de alimentos o agua contaminada pues los organismos pueden sobrevivir en el medio ambiente por largo tiempo. El riesgo de la infección depende de la actividad de la cepa, el tamaño del inóculo, la competencia con la flora establecida, la edad del paciente y los factores defensivos del huésped. Por lo tanto se considera que es un invasor oportunista y los más susceptibles son los animales jóvenes enfermos, estresados, inmunodeprimidos o debilitados y mantenidos en ambientes hacinados o con malas condiciones de saneamiento (3,12,18,19,24).

La infección por Campylobacter jejuni en perros demuestra que hay una enterocolitis erosiva superficial y se caracteriza por una diarrea acuosa mucoide de 5 a 15 días de duración que en ocasiones contiene sangre y puede estar acompañada por emesis y tenesmo. La bacteria se encuentra en animales domésticos y silvestres como enteropatógenos y eliminando en las heces de animales normales (12,13,18,21,23,28,29). El Clostridium spp es una bacteria toxigénica aislada de perros normales porque forma parte de la microflora normal pero en condiciones de inmunodepresión es causa de gastroenteritis hemorrágica aguda debido a sus toxinas (12,18,19,23,49). La E. coli al ser una bacteria saprófita del organismo muy pocas veces ocasiona un cuadro entérico por lo tanto se considera que la incidencia por esta bacteria en el perro parece ser baja (3,9,23,24,51). Dentro de las parasitosis el Ancylostoma caninum es muy común en el perro siendo un voraz succionador de sangre por lo tanto la patogenicidad del parásito está directamente relacionada con su actividad hematofaga y con la capacidad de causar diarrea. Se encuentran a lo largo de la mucosa intestinal enclavando sus piezas bucales en la mucosa succiona la sangre y líquidos tisulares dejando úlceras sangrantes al cambiar de lugar, la infección se presenta a través de cinco rutas: prenatal, láctea, ingestión de larvas L3, penetración cutánea por larvas infecciosas e ingestión de huéspedes paraténicos, en las áreas donde es un problema frecuente, las perras y los cachorros deben tratarse en forma rutinaria. Los signos clínicos de la enfermedad se caracterizan por presentar diarrea sanguinolenta o melena acompañadas por

mucosas pálidas, debilidad, emaciación y deshidratación. En los cachorros muy parasitados, la diarrea excesiva aguda y la anemia rápidamente progresiva pueden conducir a la muerte (21,22,31). Algunos protozoarios causan afección del tracto digestivo de los canideos, cuando existen factores predisponentes como desnutrición e inmunosupresión tal es el caso de Isospora spp. además también hay bacterias enteropatógenas que producen enfermedad intestinal por invasión y daño al epitelio y por tal motivo son considerados oportunistas. La principal manifestación de la enfermedad es diarrea que varía de blanda a líquida y en muchas ocasiones es sanguinolenta (3,18,19,24,49). Otro es Giardia spp se presenta con mayor frecuencia en los perros jóvenes y se caracteriza por una mala absorción intestinal con grandes volúmenes de diarrea fétida, profusa de color claro a hemorrágico provocando deshidratación. La diarrea es el signo más importante, ya que puede ser aguda o crónica, intermitente o continua y autolimitante. Por el tipo de signos que se manifiestan la enfermedad se parece a las enteritis agudas que se presentan en los procesos virales (3,18,19,24,37,53).

Existen una serie de pruebas para detectar parvovirus y llegar a un diagnóstico etiológico preciso estas son: aislamiento del virus, inmunodifusión, contraelectroforesis, inmunomicroscopia, neutralización con suero, técnica de anticuerpos fluorescentes, hemoaglutinación en heces y evaluación de la respuesta inmune (18,24,47,48,49).

Para la evaluación de la respuesta inmune, se han empleado las pruebas de seroneutralización (SN) e inhibición de la hemoaglutinación (IHA), que permiten determinar la presencia, aumento o disminución de las inmunoglobulinas (Igs.) séricas. Hay informes que evidencian la existencia de anticuerpos contra el virus del parvovirus canino (PVC) en perros que nunca han padecido la enfermedad ni fueron vacunados contra el VPC o con el virus de la panleucopenia felina.

Mediante la prueba de Hemoaglutinación (HA) se puede determinar la presencia del agente viral a partir de heces de perros, desafortunadamente también se encuentran otras hemoaglutininas inespecíficas, lo que ha dificultado su empleo como prueba de diagnóstico (42,43,47,48). Sin embargo se puede considerar que es una prueba de gran utilidad ya que se puede hacer un diagnóstico rápido y además presenta un gran nivel de confiabilidad (70-80%) y se realiza en varios laboratorios. Es de utilidad durante la fase activa de eliminación del parvovirus en heces, lo que ocurre durante las dos semanas posteriores a la infección.

El parvovirus canino es capaz de aglutinar eritrocitos de cerdo y de mono rhesus mediante una hemoaglutinina viral y para determinar la presencia del virus en heces se centrifugan suspensiones de materia fecal y con el sobrenadante se hacen diluciones y a cada una se le añaden eritrocitos de cerdo. Cuando se encuentran títulos de HA de 1280 a 10240 nos indica que hay un proceso infeccioso (16,17,42,47,48).

La prueba de (IHA) puede emplearse también para identificar la presencia de anticuerpos en el suero de los perros. Se someten diluciones del suero en estudio a un tratamiento con el 2-mercaptoetanol para inactivar a las IgM. El suero así tratado se utiliza para la prueba de IHA. Simultáneamente se examina una dilución sin haber sido tratada y se comparan los resultados. Cuando en el suero predominan los anticuerpos de la clase IgM, los títulos de IHA obtenidos con el suero tratado serán inferiores a los que se presentan con el suero sin tratar. Se sabe que las inmunoglobulinas de la clase IgM son las primeras que se producen como resultado de la estimulación primaria del sistema inmunocompetente con un antígeno determinado y que esta clase de inmunoglobulina predomina durante las etapas iniciales de una infección activa. Si los títulos de anticuerpos son similares con el suero tratado y el suero sin tratar, se considera que los anticuerpos predominantes son de la clase IgG. En estos casos se considera que los anticuerpos son producto de contactos previos (15,16,17,22,27,29,47,48).

Puesto que la única forma de control adecuada para la enfermedad es mediante la vacunación, existen en el mercado una serie de vacunas que pueden ser elegidas por los clínicos, las más utilizadas son las vacunas vivas preparadas con parvovirus canino modificado las cuales estimulan títulos muy superiores de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación (IHA). hasta de 1:10241. Los cachorros de madres sin anticuerpos contra parvovirus, pueden ser vacunados desde el tercer día de nacidos. Los cachorros procedentes de madres inmunes pueden ser vacuna-

dos a partir de las 16 semanas de edad. Cuando son vacunados antes, la vacuna es interferida por los anticuerpos maternos (3, 17,18,35,47,48,51). Esto se debe a que las madres vacunadas desarrollan muy altos títulos, que son transmitidos a los hijos a través de la placenta y en el calostro existiendo títulos en producto semejantes a los de la madre que desaparecen hasta las nueve o diez semanas de edad (17,18,47,48).

OBJETIVOS.

- Evaluar la presencia de títulos virales hemoaglutinantes compatibles con infección por parvovirus canino.
- Valorar los títulos de anticuerpos mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IHA) de algunos animales seleccionados al azar y correlacionarlos con sus títulos hemoaglutinantes en heces.
- Correlacionar los cambios hemáticos encontrados en animales sospechosos de parvovirus canino.
- Corroborar la presencia de portadores sanos.

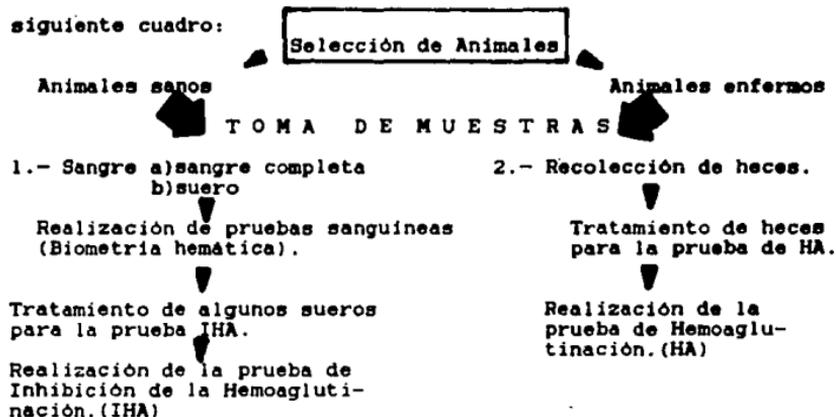
MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se desarrolló en clínicas de la zona norte del Distrito Federal, así como en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la FES-Cuautitlán, Laboratorios Biotell, S.A. y Asociación humanitaria A.C.

Se utilizaron 53 canideos de dos a ocho meses de edad que ingresaron a las clínicas del Área norte del Distrito Federal, presentando un cuadro de gastroenteritis hemorrágica altamente sugestiva de Parvovirus tomando en cuenta la historia clínica del paciente y evaluando el estado físico del paciente. Así mismo se emplearon 50 cachorros con el mismo intervalo de edad, clínicamente sanos los cuales conformaron el grupo control del diseño experimental.

DISEÑO EXPERIMENTAL.

El diseño experimental se llevó a cabo de acuerdo al siguiente cuadro:



RECOLECCION DE LAS MUESTRAS.

A todos los animales se les tomaron la siguiente serie de muestras:

1.- Se obtuvieron aproximadamente 5 ml. de sangre de cada donador por venipunción; previo rasurado y asepsia de la zona, de la vena cefálica tal y como se describe en la literatura (21,33,34,39,52). Se utilizaron jeringas de 5 ml. y agujas estériles de calibre 21*, 2 ml. se depositaron en viales de vidrio limpios los cuales contenían EDTA, a una dosificación de 1mg./ml de sangre. La sangre restante se trasladó a un tubo de ensaye sin anticoagulante para la obtención del suero. Las muestras se trasladaron inmediatamente al laboratorio de análisis clínicos de la FES-Cuautitlán, para realizar las pruebas, en un medio refrigerado con el fin de que las muestras presentaran los menores cambios posibles.

2.- Se recolectaron muestras de heces en frascos de vidrio limpios y secos y en algunos animales las muestras se tomaron directamente del recto, empleando un isopo. Colocandolas posteriormente en cubos de ensaye.

PRUEBAS DE LABORATORIO

A las muestras de sangre completa, se les realizó las pruebas de que consta la Biometria Hemática, por medio de procedimientos rutinarios descritos.

Conteo de glóbulos blancos y rojos mediante la técnica del hemocitómetro.

* Plastipak, B-D.

Determinación de Hematocrito. Por la técnica del microhematocrito .

Determinación de Hemoglobina. Usando la técnica de la oxihemoglobina.

Velocidad de Sedimentación Globular (VSG). Utilizando el método de Wintrobe.

Estudio del Frotis. A través de la técnica de la coloración de Wright, utilizando una extensión de sangre para realizar un frotis sanguíneo por el método longitudinal en portaobjetos y teñido con el colorante de Wright. Para el conteo diferencial se observó el frotis con el objetivo de inmersión (100x), identificando las células blancas, hasta contar un total de 100. Las células a identificar fueron polimorfonucleares (neutrófilos segmentados, neutrófilos en banda, eosinófilos, basófilos) y mononucleares. El resultado final se obtuvo en porcentaje, mientras que los valores absolutos se obtuvieron en miles por microlitro de sangre (22,34,35,40,52).

La prueba de inhibición de hemoaglutinación se realizó mediante la separación del coágulo por centrifugación a 2500 rpm durante 10 minutos. Cada suero se inactivó a 56 C durante 30 minutos y se absorvieron con una suspensión de eritrocitos de cerdo al 50% durante doce horas a 4 C . La técnica empleada es la descrita por Carmichael y Senda, utilizando para ella el virus Cepa ATCC-VR-369 de parvovirus canino con 4 unidades hemoaglutinantes, se utilizaron eritrocitos de cerdo al 1.0% a un PH de 7. Se realizaron diluciones dobles del suero en 0.025 ml del diluyente, se mezclaron con 0.025 ml del antígeno conteniendo

4 unidades hemoaglutinantes. La mezcla se dejó una hora a temperatura ambiente y posteriormente se le agregó 0.05 ml de una suspensión de eritrocitos a 4 C. La prueba se incubó a 4 C durante cuatro horas. El título de IHA se expresó como el recíproco de la dilución más alta de suero que presentaba completa ausencia de hemoaglutinación. Cada prueba incluyó controles de eritrocitos, virus y suero de referencia. (55,56).

Tratamiento de Heces para la Prueba de Hemoaglutinación.

HECES

SOLUCION 1/10 Solución Buffer pH7

Centrifugación 2000 RPM 15' -----Calentamiento 56 30'

Con la muestra de heces y el PBS se hizo una dilución de

Agregar Cloroformo volumen 1/10 --Agitar vigor. 5 min.

Centrifugar 3000 RPM ---15 minutos

Sobrenadante para probar.

Realización de la prueba de Hemoaglutinación.

La prueba se elaboró en microplaca de 96 pozos con fondo tipo U, realizando diluciones dobles seriadas de las muestras, una vez efectuadas las diluciones se adicionaron eritrocitos al 1%, se homogenizaron perfectamente y se incubaron a 4 C durante 4 horas; el título fue expresado como el recíproco de la dilución más alta que mostró completa hemoaglutinación. (56)

Los resultados fueron analizados por métodos de estadística descriptiva y prueba de Tukey.

RESULTADOS.

Los resultados de la prueba de hemoaglutinación que se llevó a cabo en todos los animales (sanos y enfermos), se presenta en el cuadro No.1, tomando 1280 unidades hemoaglutinantes (UHA) como títulos compatibles con infección por parvovirus, así mismo, también se encuentran en el cuadro No. 2 los resultados de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación que se realizó en sueros de algunos animales seleccionados al azar. Se determinaron como títulos compatibles con protección ya sea vacunal o por vía natural (inmunidad pasiva) 320 unidades inhibidoras de hemoaglutinación (UIHA).

Los resultados de la fórmula blanca en los animales enfermos positivos y negativos respectivamente se reportan en los cuadros No.3 y 4 respectivamente. Se incluyen sus títulos hemoaglutinantes (HA) en heces y de inhibidores de hemoaglutinación (IHA).

Lo más relevante en el grupo control con respecto a la prueba de hemoaglutinación es mencionar que se encontró un animal sano no vacunado que presentó altos títulos HA (10240) y títulos de IHA de 160. Aunado a este se determinaron en 14 animales sanos títulos HA de 20 a 640, 4 animales no tienen títulos HA y títulos IHA de 640 a 1280 y un animal que no presenta títulos tanto de HA como de IHA.

En las gráficas se representan los resultados de las pruebas de biometría hemática, en primer lugar se observan los valores promedio obtenidos en las pruebas de Biometría Hemática cada grupo: control, enfermos positivos y enfermos negativos

comparados con el intervalo normal calculado, a partir del promedio $\pm 1S$, de los animales del grupo control y posteriormente se esquematiza el número de cachorros que presentaron valores menores normales o mayores del intervalo normal calculado.

En la gráfica 1 se representan los valores de glóbulos blancos donde se aprecia que los valores de animales enfermos positivos y negativos se encuentran por debajo de los valores promedio del grupo control e incluso son inferiores al intervalo normal calculado y al comparar el número de perros enfermos contra el intervalo normal calculado en la gráfica 1A se observa que el mayor número de casos cursaron con Leucopenia el mismo comportamiento descrito es evidente en las gráficas 2, 2A, 3 y 3A de linfocitos y neutrófilos respectivamente.

En la prueba de hematocrito (Gráfica 4), se observa una disminución de los valores promedio de animales positivos con respecto al intervalo normal mientras que los negativos se encuentran en los límites inferiores del intervalo normal y por debajo del valor promedio del grupo control. El número de perros comparado con el intervalo normal se esquematiza en la gráfica 4A.

Los valores promedio de la concentración de Hemoglobina (Gráfica 5) de los animales positivos a la HA se encuentran en el límite del intervalo normal y los enfermos negativos a la misma, están dentro del intervalo normal muy similar al encontrado en el grupo control, mientras que en la gráfica No. 5A se observa una considerable cantidad de animales enfermos con baja cantidad de hemoglobina.

En la gráfica 6 está representada la cantidad de eritrocitos que en el caso de animales positivos se encuentran en los límites superiores del intervalo normal mientras que los negativos sobrepasan marcadamente. En relación al número de perros (Gráfica 6A) se observa una respuesta diversa.

La diferencia mínima significativa calculada mediante la prueba de tukey y las comparaciones entre grupos se muestran en el cuadro 5.

En el cuadro 6 se muestran el número de perros que presentaron anemia del grupo de animales enfermos y su clasificación morfológica. Adicionalmente, se observó respuesta microcítica hipocrómica en animales que no presentaron anemia siendo 6 perros del grupo de enfermos positivos y 2 negativos.

Los valores de Biometría Hemática calculados a partir del grupo control y su comparación con los datos de la bibliografía se encuentran agrupados en el cuadro 7.

CUADRO 1

**Resultados de la prueba de Hemoaglutinación
en heces de los animales de experimentación**

Grupo	Títulos +/= 1280 UHA		Títulos menores a 1280 UHA			
	n	%	n	%	n	%
Animales enfermos	26	49	27	51	20-640 UHA : 12	44
					0 UHA : 15	56
Control	1	2	49	98	20-640 UHA : 15	31
					0 UHA : 34	69

* UHA= unidades Hemoaglutinantes.
n= número de animales.

CUADRO 2

**Resultados de la prueba de Inhibición
de la Hemoaglutinación en suero de los
animales de experimentación**

Grupo	Títulos ≥ 1280 IHA		Títulos menores a 1280 IHA*		
	n	%	n	%	n
Animales enfermos	3	23	10	77	20-640 HA : 9 0 HA : 1
Control	3	37.5	5	62.5	20-640 HA : 3 0 HA : 2

* IHA= Inhibición de la Hemoaglutinación.
n= número de animales.

CUADRO 3. VALORES LEUCOCITARIOS Y TITULOS HEMOAGLUTINANTES OBTENIDOS A PARTIR DE ANIMALES ENFERMOS POSITIVOS

ENFERMOS POSITIVOS	TITULOS HA*	TITULOS INA**	LEUCOCITOS		NEUTROFILOS	NEUTROFILOS	EOSINOFILOS	MONOCITOS	PLASMOFILOS
			MI	MI	MI	MI	MI	MI	MI
1	1280	NR	28500.0	3200.0	15500.0	205.0	1025.0	410.0	0.0
2	25120	NR	19500.0	4600.0	12070.0	390.0	1170.0	390.0	0.0
3	5120	320	19400.0	5020.0	12610.0	194.0	300.0	300.0	0.0
4	10240	NR	18000.0	2632.0	15416.0	564.0	0.0	180.0	0.0
5	2560	NR	10550.0	2040.5	6446.5	316.5	527.5	211.0	0.0
6	40960	NR	9700.0	1043.0	6904.0	97.0	405.0	291.0	0.0
7	20480	320	7000.0	1050.0	5250.0	210.0	200.0	210.0	0.0
8	5120	640	7000.0	1050.0	5250.0	210.0	200.0	210.0	0.0
9	2560	1280	6600.0	1320.0	4752.0	66.0	330.0	132.0	0.0
10	40960	NR	5750.0	460.0	4197.5	230.0	517.5	345.0	0.0
11	1280	NR	5300.0	795.0	3975.0	159.0	212.0	159.0	0.0
12	2560	NR	5200.0	260.0	4420.0	0.0	520.0	0.0	0.0
13	2560	NR	5100.0	400.0	3025.0	204.0	400.0	255.0	0.0
14	1280	NR	4900.0	343.0	3626.0	196.0	441.0	294.0	0.0
15	20480	NR	4500.0	270.0	3420.0	135.0	405.0	270.0	0.0
16	40960	NR	4300.0	301.0	3182.0	172.0	387.0	258.0	0.0
17	10240	NR	3050.0	462.0	2772.0	231.0	300.0	77.0	0.0
18	2560	320	3000.0	266.0	1012.0	152.0	342.0	208.0	0.0
19	5120	NR	5750.0	450.0	2700.0	225.0	300.0	75.0	0.0
20	40960	NR	3500.0	420.0	2520.0	210.0	280.0	70.0	0.0
21	2560	NR	3200.0	992.0	1696.0	200.0	96.0	96.0	32.0
22	10240	NR	2600.0	312.0	1072.0	156.0	200.0	52.0	0.0
23	1280	NR	2600.0	102.0	1924.0	104.0	234.0	156.0	0.0
24	10240	NR	2300.0	276.0	1656.0	138.0	184.0	46.0	0.0
25	5120	NEGATIVO	1500.0	330.0	960.0	90.0	90.0	30.0	0.0
26	1280	NR	1500.0	100.0	1000.0	90.0	120.0	30.0	0.0
MEDIA			7026.9	1201.2	5030.3	193.6	366.6	109.7	1.2
DESV STD			5749.6	1451.3	4196.0	100.9	252.1	121.0	6.2

*HA= Hemoaglutinantes

**INA= Inhibidores de Hemoaglutinación

NR= No se analizó.

CUADRO 4. VALORES LEUCOCITARIOS Y TITULOS HEMOAGLUTINANTES OBTENIDOS A PARTIR DE ANIMALES INFERNOS NEGATIVOS

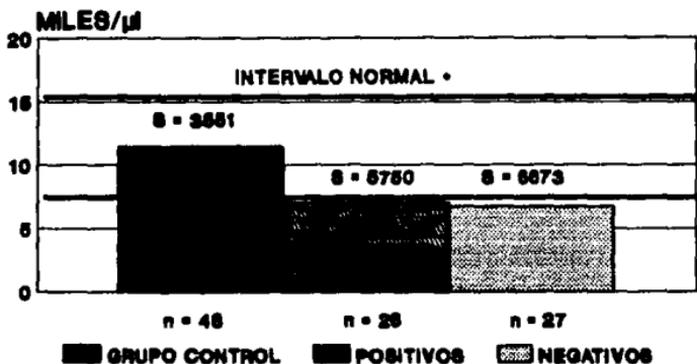
INFERNOS NEGATIVOS	TITULOS HA*	TITULOS INA**	LEUCOCITOS	LINFOCITOS	NEUTROFILOS SUBMITIADOS	NEUTROFILOS MAFDA	MONOCITOS	EOSINOFILOS	MASOPILOS
			µl	µl	µl	µl	µl	µl	µl
1	20	320	23550.0	7065.0	12481.5	0.0	471.0	1084.0	1648.5
2	NEGATIVO	NR	20100.0	3015.0	15075.0	603.0	804.0	603.0	0.0
3	NEGATIVO	NR	20000.0	5400.0	12600.0	0.0	1600.0	0.0	0.0
4	20	1200	19700.0	591.0	5122.0	2364.0	3349.0	2955.0	0.0
5	160	320	13900.0	2363.0	10200.0	139.0	695.0	417.0	0.0
6	NEGATIVO	NR	11100.0	2664.0	7215.0	333.0	555.0	333.0	0.0
7	NEGATIVO	NR	9350.0	2005.0	6077.5	93.5	107.0	107.0	0.0
8	NEGATIVO	NR	6700.0	1600.0	4355.0	201.0	335.0	201.0	0.0
9	NEGATIVO	00	6700.0	1600.0	4422.0	134.0	402.0	134.0	0.0
10	320	NR	6250.0	1000.0	4750.0	62.5	312.5	125.0	0.0
11	NEGATIVO	NR	6000.0	900.0	4560.0	120.0	240.0	100.0	0.0
12	20	NR	5100.0	400.0	3025.0	204.0	400.0	255.0	0.0
13	40	NR	4050.0	970.0	3492.0	40.5	242.5	97.0	0.0
14	NEGATIVO	NR	3950.0	711.0	2606.0	0.0	255.5	197.5	0.0
15	320	NR	3100.0	099.0	2232.0	62.0	124.0	93.0	0.0
16	640	NEGATIVO	2700.0	270.0	1990.0	162.0	216.0	54.0	0.0
17	NEGATIVO	NR	2550.0	433.5	1034.0	76.5	102.0	102.0	0.0
18	NEGATIVO	NR	2350.0	517.0	1504.0	141.0	141.0	47.0	0.0
19	640	NR	2200.0	374.0	1430.0	66.0	264.0	66.0	0.0
20	NEGATIVO	00	1800.0	396.0	1100.0	72.0	144.0	0.0	0.0
21	160	1200	1800.0	200.0	1260.0	100.0	100.0	36.0	0.0
22	320	NR	1000.0	396.0	1100.0	72.0	144.0	0.0	0.0
23	NEGATIVO	320	1600.0	432.0	976.0	00.0	112.0	32.0	0.0
24	20	NR	1500.0	330.0	1020.0	90.0	45.0	15.0	0.0
25	NEGATIVO	NR	1300.0	390.0	720.0	70.0	70.0	26.0	0.0
26	NEGATIVO	NR	1300.0	206.0	032.0	70.0	70.0	26.0	0.0
27	NEGATIVO	NR	1050.0	21.0	966.0	31.5	31.5	0.0	0.0
MEDIA			6751.9	1338.5	4226.1	199.5	427.6	298.7	61.1
DESV. STD			6673.4	1629.4	3952.2	440.6	654.3	632.7	311.3

*HA= Hemoaglutinantes

**INA= Inhibidores de la Hemoaglutinación

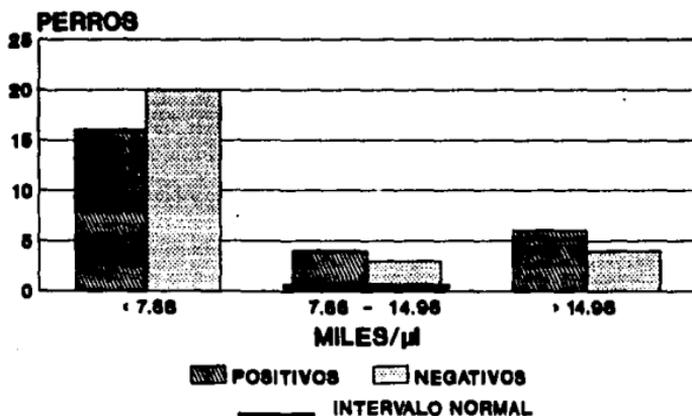
NR= No realizado

GRAFICA 1.
Valores promedio de leucocitos
en los grupos experimentales

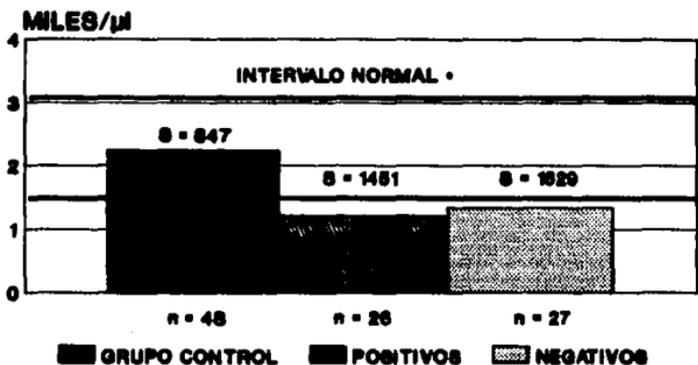


• Media \pm 1 desv. estándar
a partir de los animales sanos.

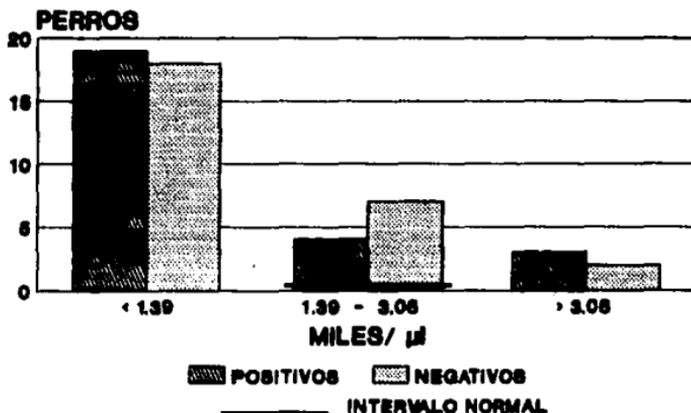
GRAFICA 1A
Número de perros en base al
intervalo normal calculado



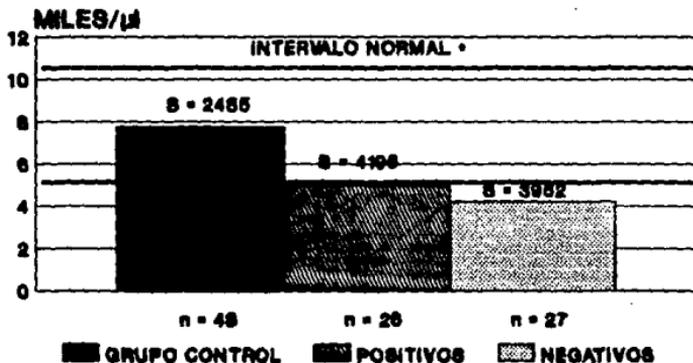
GRAFICA 2
Valores promedio de linfocitos
en los grupos experimentales.



GRAFICA 2A
Número de perros en base al
Intervalo normal calculado.

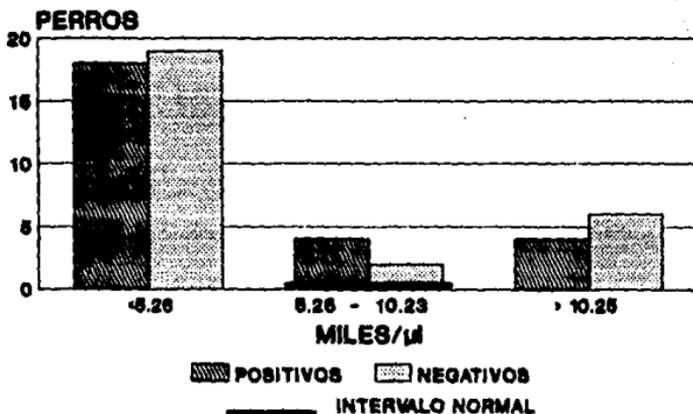


GRAFICA 3
Valores promedio de neutrófilos segmentados en los grupos exp.

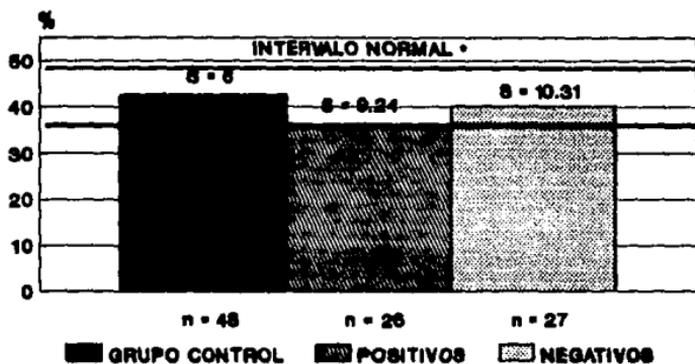


• Media +/- 1 desv. estándar a partir de los animales sanos.

GRAFICA 3A
Número de perros en base al intervalo normal calculado.

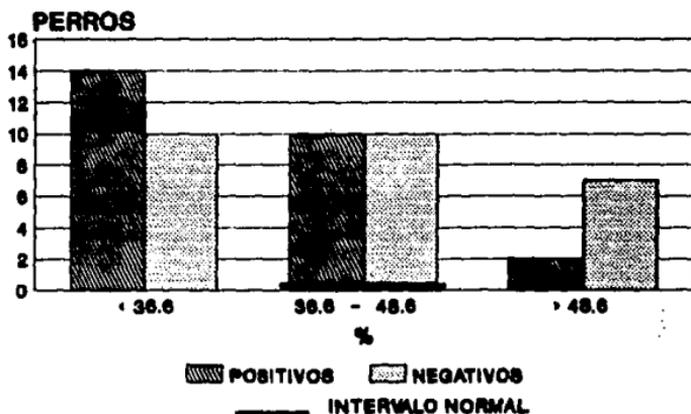


GRAFICA 4
Valores promedio de hematocrito
en los grupos experimentales.

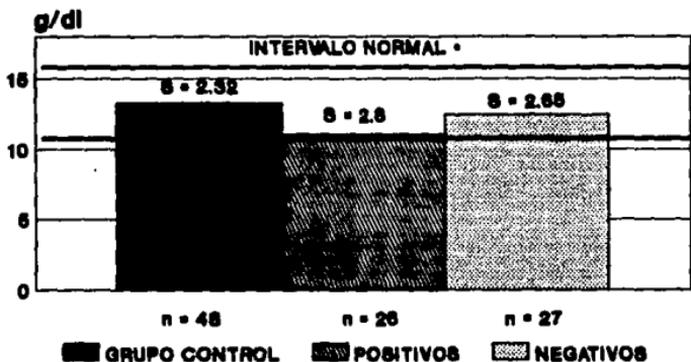


• Media +/- 1 desv. estándar
a partir de los animales sanos.

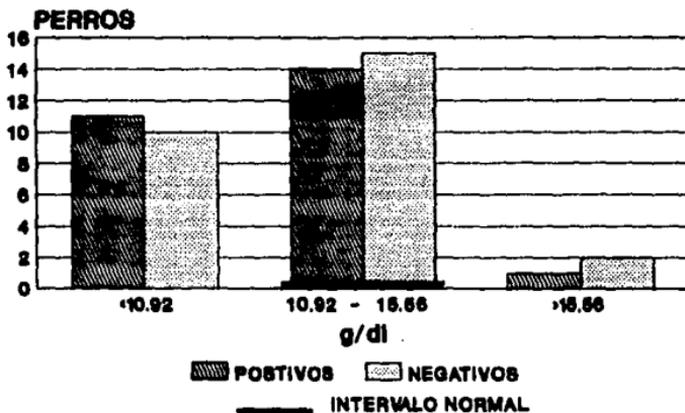
GRAFICA 4A
Número de perros en base al
intervalo normal calculado.



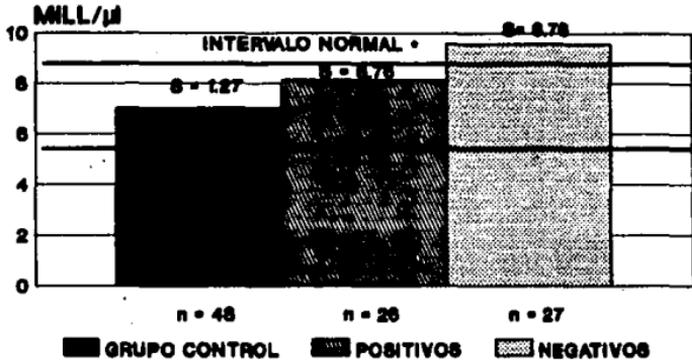
GRAFICA 5
Valores promedio de hemoglobina
en los grupos experimentales.



GRAFICA 5A
Número de perros en base al
intervalo normal calculado.

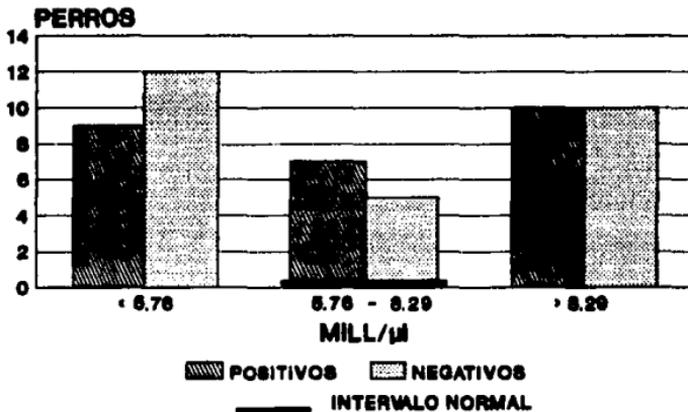


GRAFICA 6
Valores promedio de eritrocitos
en los grupos experimentales.



• Media +/- 1 desv. estándar
a partir de los animales sanos.

GRAFICA 6A
Número de perros en base al
intervalo normal calculado.



CUADRO 5

Resultados de la Prueba de Tukey efectuada en los grupos de experimentación

Grupo	Leucocitos #	Linfoitos	Neutrófilos segmentados	Eritrocitos	Hematocrito	Hemoglobina
Control	11499.4A	2183.9A	7747.9A	6.389A	42.696A	13.248A
Enfermos positivos	488.5A	1261.2A	5038.3B	6.463A	38.664B	12.127A
Enfermos negativos	455.6B	1338.5B	4226.1B	5.153A	40.296A, B	12.468A
DMS**	1499.6	763.44	2888.6	1.3481	6.079	1.7668

Se representa el valor promedio obtenido en cada grupo por determinación.

** DMS= Diferencia Mínima significativa

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

CUADRO 6

Clasificación morfológica de las anemias observadas en el grupo de animales enfermos

Tipo de Anemia	Enfermos (+)	Enfermos (-)	Total
Normocítica hipocrómica	1	0	2
Microcítica hipocrómica	4	2	17
Macrocítica hipocrómica	3	4	8
Normocítica normocrómica	2	0	6
Total	10	6	33

CULBRO 7

VALORES HEMÁTICOS OBTENIDOS DEL GRUPO CONTROL COMPARADOS CON LOS REPORTADOS EN LA BIBLIOGRAFÍA

	GRUPO CONTROL		BIBLIOGRAFÍA*				
	PROMEDIO	INTERVALO**	PROMEDIO	DS	PROMEDIO	DS	
EDAD EN MESES	2-6		2		4-6		
No. DE PERNOS	00:00		42.00		9.00		
HEMATOCRITO (%)	42.60 - 36.60	48.60	31.40	2.40	44.00	2.40	
HEMOGLOBINA (g/dl)	13.24 - 10.92	15.56	10.30	0.90	14.40	0.82	
HEMATOCITOS (10 ⁶ /ml)	7.82 - 5.76	8.92	4.70	0.40	6.56	0.82	
VM (fl)	63.00 - 56.00	70.00	65.00	2.30	67.20	2.90	
MM (pg)	20.50 - 16.00	25.00	21.00	1.20	21.90	0.90	
CMG (g/dl)	31.00 - 27.00	35.00	32.60	1.00	32.70	0.80	
LEUCOCITOS (10 ⁶ /ml)	11433.00	7002.00	14904.00	15700.00	4000.00	13589.00	1751.00
NEUTRÓFILOS							
SOMBRITADOS	7754.00	5269.00	10230.00	8500.00	2900.00	7196.00	1509.00
EN BANDA				300.00	300.00	800.00	117.00
LINFOCITOS	2236.00	1309.00	3004.00	5000.00	1500.00	4900.00	510.00
MONOCITOS	797.00	390.00	1203.00	1400.00	700.00	810.00	311.00
EOSINÓFILOS	417.00	197.00	637.00	400.00	400.00	530.00	225.00
PLASMOCITOS	RAROS		RAROS		RAROS		

* Valores obtenidos de: Jain, N.C. Schlen's Veterinary Hematology, 4th. Lea-Febiger (1984)

** Los intervalos representan el promedio +/- la Desviación Estándar (DS)

DISCUSION

Los resultados obtenidos en este trabajo y considerando 1280 UHA como títulos hemoaglutinantes compatibles con infección por parvovirus canino; de acuerdo al criterio establecido por Carmichael; 1983 y Soto; 1992. observamos que el 49% (26) de las muestras de los animales sometidos a la prueba de hemoaglutinación en heces fueron positivos mientras que el 51% resultó negativo. No obstante que los animales clínicamente enfermos fueron altamente sugestivos de parvovirus. Posiblemente el número de animales enfermos negativos, sea menor debido a que en ocasiones la cantidad de heces recolectada no es lo suficiente para detectar la hemoaglutinina viral tomada, un porcentaje de este grupo pudo haberse confirmado mediante la utilización de métodos más sensibles y específicos como sería el aislamiento viral, reproducción de la enfermedad, microscopía electrónica y contraímmunoelectroforesis (19,28,29,34) ya que estas requieren de mayor especialidad para su realización e interpretación, haciéndolas de un alto costo y son de poca disponibilidad.

De cualquier manera un alto porcentaje de casos de gastroenteritis hemorrágica, no son producidos por parvovirus canino y pueden estar relacionadas con infecciones entéricas causadas por diversos agentes como: Coronavirus, Rotavirus, Salmonella spp., Campylobacter jejuni, Clostridium spp y Escherichia coli. parásitos: Ancylostoma caninum, Isospora spp y Giardia. El problema es que muchos de estos agentes etiológicos se encuentran interrelacionadas entre si y el diagnóstico en ocasiones es difícil de establecer (6,7,12,14,18,19,21,23,24.

28,29,32,53). Por lo que es importante realizar un diagnóstico etiológico; la prueba de HA, tiene de (90-95%) de confiabilidad para detectar hemoaglutinina viral, y sensibilidad de un 90% pero no específica para detectar proteína de fusión; requiere para su realización, pequeña cantidad de heces siendo una prueba rápida, sencilla y de bajo costo en relación con otras pruebas serológicas disponibles en nuestro país(18,19). Es necesario confirmar el diagnóstico por laboratorio de la enfermedad pues se esta sobrevalorando la parvovirus canina y por tal motivo no se proporciona la debida atención al diagnóstico de otras enfermedades entéricas.

Es necesario realizar estudios de epidemiología y así contribuir en el conocimiento de esta enfermedad pues se sabe que la mayoría de las manifestaciones clínicas de la enfermedad cambian de región en región y la información obtenida constituye un archivo de gran valor que beneficia el desempeño clínico.

Actualmente no existen estudios epidemiológicos, esto es muy importante mencionarlo pues se observa que a la enfermedad se le estan dando diferentes criterios de un nuevo comportamiento clínico. Existen publicaciones de trabajos realizados en 1981 (1) donde informan un 17.04% de casos positivos a parvovirus. Por otra parte en 1986 informan un 90% de casos positivos (56). Las diferencias en los resultados de estos trabajos pueden deberse a las diferentes zonas de la ciudad en que se realizaron las investigaciones como el periodo del año; ya que en el primero se obtuvieron los casos en la zona sur y en el segundo se examinaron

muestras de heces en los meses de octubre a diciembre provenientes de clínicas particulares de toda la ciudad. En este trabajo la mayoría de animales que resultaron positivos provenían de la zona norte del Distrito Federal, pero hay que considerar que la cantidad de animales muestreados fueron muy pocos. Por lo tanto, se requiere realizar estudios periódicos por delegación, con mayor número de animales para conocer más sobre el comportamiento de la enfermedad y en las clínicas en la medida que sea posible realizar un diagnóstico de rutina mediante la prueba de HA, el pvc para de este modo integrar un archivo clínico adecuado y mantenerlo actualizado. Esto puede aplicarse no solo en esta enfermedad sino en la mayoría de las entidades no zoológicas.

La prueba de IHA se sabe que esta prueba no distingue entre un anticuerpo producido por vía vacunal o por exposición natural (55, 56). Se requiere para su realización una pequeña cantidad de suero.

Los resultados en los animales seleccionados al azar del grupo clínicamente enfermos se observó que todos presentaron títulos de IHA mayores a 1:320, excepto el perro número 25.

Estos títulos pudieron ser causados por:

- a) Exposición al agente infectante previo a la vacunación.
- b) Incapacidad del antígeno inmunizante .
- c) Por una exposición natural.

Para así tener un nivel suficiente de inmunidad y bloquear el cuadro clínico intestinal, bloqueo con vacunación de la inmunidad pasiva (51,53,55,56). Son perros en declinación de inmuni-

dad pasiva infectados en forma natural o por vacunación, los cuales adquirieron la infección y respondieron serológicamente. Esta información se apoya en el hecho de que hay estudios en perros con niveles bajos de inmunidad pasiva que al ser desafiados tienen respuestas mayores de 320 UIHA (28). Este comportamiento que se observa en los animales de este grupo fué que la enfermedad de parvovirus canino se presenta inicialmente como una infección sistémica, la presencia de anticuerpos séricos bloquea el virus e impide su paso hacia el intestino (47,48,49).

En el grupo de animales enfermos negativos (Cuadro 4) a la prueba de HA, considerando títulos compatibles a la infección. El 50% (13) de los perros presentaron títulos HA que van de 20 a 640 esto demuestra que de cualquier manera hay una eliminación del virus.

En algunos de estos perros (1, 4, 5, 21) con títulos IHA de 320 manifiestan respuesta de inmunidad. La amplia diseminación del virus dentro de la población canina se explica, debido a que este se elimina en grandes cantidades por heces, tomando en cuenta que las excreciones alcanzan los 10 DIT (Dosis total inmunizante) 50% y que las dosis mínimas para inmunizar son de 10 DIT 50% por lo tanto la probabilidad de que la población canina se exponga al antígeno y se inmunize es alta (18,49).

En el grupo control hay un animal que presentó excreción de los títulos de HA de 10240 y tuvo títulos de anticuerpos por IHA de 160, este animal no estaba vacunado, siendo éste muy importante, puesto que al igual que él muchos animales expuestos al

virus pueden presentar una buena respuesta inmune, pero además estar eliminando ampliamente el virus, sin padecer la enfermedad quedando como animales portadores sanos (56). Tal y como se observó en los enfermos negativos en el grupo control hubo animales sanos que presentaron títulos de 20 a 640 UHA, esto indica que aunque tengan títulos de nivel alto existe eliminación viral en heces. Además se habla de una inmunidad humoral e inmunidad celular propuesta por Rice et. al. 1985 en donde se detectan niveles de inmunidad: humoral e intestinal.

Dichos autores mencionan que la inmunidad local es más importante que la humoral pues los anticuerpos humorales bloquean la fase virémica, sin embargo no aseguran la completa protección ya que sin la respuesta intestinal a PVC, los perros pueden constituirse como portadores inaparentes del virus y ser fuente de infección para otros perros. De acuerdo a lo anterior se supone que un cierto porcentaje de perros vacunados pueden adquirir la infección, no mostrar signos y excretar el virus, lo que corrobora la presencia de portadores sanos (18,55,56). Esta afirmación no es compartida por el grupo de investigadores del doctor Carmichael, los cuales mencionan que los títulos séricos son suficiente para evitar la infección por parvovirus, ya que existen trabajos en donde se reporta la protección al desafío en perros vacunados con virus inactivos que se limitan a producir inmunidad humoral sin embargo, se debe considerar que las enfermedades virales son complejas y el proceso infeccioso debe comprender inmunidad sistémica y local (48,51).

Se observa también en los resultados que hay cuatro animales del grupo control y algunos enfermos negativos sin títulos HA y de 640 a 1280 UIHA, esto significa que tienen un buen nivel de protección contra la enfermedad. (18,48).

Con respecto al animal sano no vacunado, que no presenta títulos IHA y HA indica que no está afectado por el virus pero al no tener títulos protectores se considera un animal susceptible de padecer la enfermedad en cualquier momento por lo tanto es importante proceder a la inmunización (48,56).

En relación a los cambios hemáticos (Graf.1 y 1A) se demostró que la mayoría de animales enfermos cuyos resultados de la prueba HA es positiva presentan un cuadro de leucopenia, coincidiendo con lo informado en la literatura (18,24,25,56), se han encontrado animales con una leucopenia muy marcada, la cual es evidente en los estadios iniciales de la enfermedad encontrándose de 2000 a 4000 GB/ul. En otros experimentos se han encontrado cuentas menores en la fase inicial de la enfermedad (21,45,51). El mismo comportamiento descrito es evidente en las gráficas 2, 2A, 3 y 3A de linfocitos y neutrofilos respectivamente.

Según Olsen, 1990; se presenta un cuadro de inmunosupresión comunmente con leucopenia asociado a linfopenia, dado que el virus afecta a los nódulos linfáticos y al timo en perros infectados por una cepa virulenta de Parvovirus canino, esto en los tres primeros días post-inoculación, los cambios progresivos son marcados por una disminución cortical de linfocitos a los cinco o siete días. La regeneración del timo en animales que se

recuperan, se da después de unos cinco días post-infección. La mayoría de los efectos del virus se presentan también en otros órganos linfoides como: tonsilas, placas de Peyer y nódulos linfoides mesentéricos ya que el virus es muy selectivo de estos órganos, habiendo citolisis evidente en los nódulos linfoides, solamente después de los primeros días post-infección oral. Por lo anterior se puede mencionar que el virus interacciona rápidamente con la respuesta de anticuerpos y ocurre una leucopenia, presentando necrosis severa de los nódulos linfoides y atrofia del timo en perros infectados con PVC virulento, la eliminación del PVC en heces y la recuperación de los signos clínicos de la enfermedad, esta estrechamente relacionada con el desarrollo de anticuerpos humorales contra PVC y además con la secreción de anticuerpos locales de la clase IgA e IgE en el lumen intestinal, afectando en forma importante el desarrollo del virus (9.45.48), por lo tanto la linfopenia que se presenta generalmente es de corta duración.

En relación a los neutrófilos Gráfica 3 y 3A se observa que los conteos de neutrófilos en animales positivos están disminuidos con respecto al intervalo normal calculado, habiendo neutropenia la cual esta asociada con la infección por Parvovirus canino; está restringida a perros con enfermedad severa terminal y de pronóstico desfavorable sobre todo si se asocia a linfopenia marcada presentandose después de la infección cuando hay manifestaciones clínicas de diarrea con sangre y contenido del epitelio intestinal siendo esto un grave problema ya que la supresión del sistema inmune contribuye al desarrollo de agentes

invasivos secundarios; generalmente son bacterias, aunque los parásitos también contribuyen a la presencia de signos entéricos complicados (9.45.48).

Los cambios leucocitarios observados en el grupo de animales enfermos negativos son similares a los positivos. Estos efectos pueden ser causados por infecciones virales y bacterianas graves, sobretodo las que cursan con septicemias graves y/o endotoxemia y los cambios dependeran de la concentración de endotoxinas (9.34.45.48). La alta desviación standard observada en ambos grupos (positivos y negativos) es debida al amplio rango de valores individuales que iban de leucocitosis marcada, probablemente por infecciones complicadas por bacterias oportunistas a leucopenia severa por efecto directo del virus y/o endotoxemias.

Los resultados de la prueba de Tukey (cuadro No. 5) revelan que los valores leucocitarios de los animales enfermos positivos y negativos no son estadísticamente diferentes entre ellos pero si con respecto al grupo control, por lo tanto la respuesta leucocitaria no es un dato de diagnóstico específico pero nos proporciona datos generales de la inflamación desencadenada y es un indicador de pronóstico de la enfermedad por encontrar leucopenia severa, ya sea en animales enfermos de parvovirus o de alguna otra enfermedad, esto nos sugiere implementar una terapia más agresiva (9.34).

Los cambios descritos en relación al número de eritrocitos y hematocrito (Gráficas 4, 4A y 6) indican una disminución del volumen eritrocítico que aunado a un aparente descenso en la concentración (Gráficas 5 y 5A) indicaban que existía una respuesta microcítica hipocrómica; siendo ésta más evidente en el grupo de animales enfermos positivos como también se observa en el cuadro 6 donde hay un mayor número de animales con anemia de este tipo. Estos hallazgos sugerían que la pérdida de sangre era mayor en los animales positivos al grado de desarrollar una disminución del hierro en el organismo (24, 35, 43, 61), pero al realizar las comparaciones entre grupos (Cuadro 5) aprecia que todos los grupos no significativamente diferentes respecto a los parámetro eritrocíticos.

Es importante señalar que para el diagnóstico de Parvovirus canino se requiere realizar al menos tres pruebas básicas, Inhibición de la Hemoaglutinación, Hemoaglutinación en heces y Biometría Hemática, las cuales son accesibles, rápidas, confiables y de bajo costo, para que de esta manera se obtenga un diagnóstico integral y específico de parvovirus y a la vez establecer el pronóstico de la misma.

CONCLUSIONES

- No todos los casos con manifestación clínica de gastroenteritis hemorrágica son producidos por PVC, aunque estas sean altamente sugestivas.

- Los hallazgos hematológicos no son característicos de parvovirus pero constituyen un elemento de gran ayuda para valorar el pronóstico de la enfermedad.

- Para realizar el diagnóstico integral de parvovirus pueden utilizarse las pruebas de HA, IHA, biometría hemática aunado a la historia clínica y antecedentes vacunales.

- Algunos perros presentan eliminación de VPC en heces sin padecer la enfermedad lo que confirma la presencia de portadores sanos.

- La prueba de IHA es útil para evaluar el estado inmune del paciente y puede ser utilizada rutinariamente para el estudio de casos particulares sobretodo en el establecimiento de un calendario de vacunación.

RECOMENDACIONES

Dentro de los temas más controvertidos en la parvovirus esta el de la vacunación y el momento adecuado para realizarla. En primera instancia hay que considerar que la enfermedad se encuentra en forma controlada pues los grandes brotes de 1978 a 1980 son cosa del pasado. En trabajos publicados por Carmichael et.al, en 1988, indica que antes de que la práctica de la vacunación se difundiera mundialmente hasta en un 90% de los criaderos en Estados Unidos, los animales estaban inmunes bajo el concepto vacunación-exposición. En la actualidad el parvovirus canino al estar ampliamente diseminado en el medio ambiente, virtualmente la mayoría de los perros que están expuestos, se infectan o se inmunizan de manera natural.

Muchos perros adquieren la infección a edad temprana y algunos mueren, pero otros se recuperan y permanecen inmunes. La mayoría de los investigadores coinciden en que la enfermedad se presenta en perros jóvenes donde el nivel de inmunidad pasiva no es lo suficientemente alta para proteger a los cachorros, pero si para bloquear los antígenos vacunales (45).

El problema es que la cantidad de anticuerpos recibidos por un cachorro en la inmunidad pasiva es variable, de esta manera la edad en que los diferentes cachorros responderán a la vacunación puede variar tanto como hasta las dieciocho semanas (9,18,24,28).

Con la edad los anticuerpos maternos se van perdiendo y gradualmente el cachorro llega a una etapa en donde se puede infectar si se expone al virus (45).

Es en este momento donde es de utilidad realizar la prueba IHA ya que esta detectará la cantidad de anticuerpos que presente el animal y dependiendo de esto se podrá saber si es conveniente vacunar o no. Por consiguiente es conveniente sugerir la prueba antes de la vacunación, pues si se detectan títulos altos de anticuerpos maternos es recomendable esperar a que estos declinen y proceder a vacunar, y así evitar una infección ayuda a saber en un momento dado cuantas vacunas aplicar pues algunos animales con una sola dosis quedan inmunes, sin embargo existen perros que requieren de varias dosis.

Con la ausencia de cualquier vía práctica de predecir el periodo de susceptibilidad, las medidas adoptadas por los veterinarios para reducir el riesgo de infección es realizando repetidas vacunaciones a los individuos jóvenes desde las seis hasta las dieciocho semanas de edad. Aquellos que se vuelven susceptibles tempranamente responden a la vacunación de igual manera; aquellos que tienen suficientes anticuerpos maternos que pueden durar hasta las dieciocho semanas, son protegidas por vacunaciones posteriores, claramente se sabe que mientras más tempranas y frecuentes sean las vacunaciones, el animal será inmunizado lo más pronto posible y es menos probable que entre en contacto con el parvovirus, sin embargo, hay que considerar estas medidas incrementan el costo y hay personas que no poseen los recursos para vacunar muy frecuentemente por lo tanto, ésta y realizar la prueba IHA debe ser efectuado sobre la base individual y después de consultar al veterinario a cargo del animal.

Debe reconocerse, sin embargo, que si no conocemos el título de anticuerpos que presenta un animal antes y después de la vacunación, no importando la vacuna o el calendario de vacunación empleada puede haber fallas ocasionales. Algunos cachorros pueden exponerse en un momento donde tengan bajo el nivel de anticuerpos maternos para protegerlos o muchos para permitir la exitosa vacunación dichas fallas son más frecuentes en grandes criaderos comerciales, tiendas de animales u otras situaciones donde el riesgo de exposición sea grande y la presencia de portadores sanos sea mayor (9, 18, 45).

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Aguila T.H.M.: Determinación de anticuerpos contra parvovirus canino en sueros de perros en México. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1982.
- 2.- Appel N.J.G., Scott F.W. and Carmichael L. E.: "Isolation and immunisation studies of canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis". Vet. Rec., 105:156-159 (1979).
- 3.- Arana C. R.: Empleo del Exámen Coprológico en el Diagnóstico Etiológico de Diarreas en Caninos. Tesis de licenciatura. FES-C UNAM. Cuautitlán, Edo. de México. 1990.
- 4.- Bass, E. P., Gihi, M. A. and Beckenhaver, W. H.: "Development of modified live, canine origin parvovirus vaccine". J. Am. Vet. Med. Assoc., 181:909 (1982).
- 5.- Benjamin M. : Manual de Patología clínica veterinaria. Limusa. México, 1990.
- 6.- Binn L.N.: "Recovery and characterization of a coronavirus from military dogs with diarrhea". Proc. 78th annual meeting Am. Anim. Ass., 78: 359-366 (1974).
- 7.- Bowman W.D.: "Hookworm parasites of dogs and cats". Comp. Cont. Educ., 14: 585-595 (1992).
- 8.- Bruce D.Z.W. and Fleming, G.A.: "Campylobacteriosis infections in cats and dogs". Vet. Rec., 107: 200-201 (1980).

- 9.- Brunner C.J. and Larry J.: "Canine Parvovirus infection: effects on the Immune System and Factors that predispose to severe disease". Comp. Cont. Educ., 12: 979-987 (1985).
- 10.- Burrows C.F.: "Chronic diarrhea in the dog". Vet. Clin. N. A./ S. Anim. Pract., 521-540. (1983).
- 11.- Butron Garcia D.H.: "Frecuencia de *Leptospira* spp., *Ancilostoma* spp. y parvovirus canino de perros con vómito y diarrea hemorrágica" Rev. Amvepe, 1: 9-14 (1991).
- 12.- Butzler J.P., Skirrow M.B.: "Campylobacter enteritis". Clin. Gastroenterology, 8: 737-765 (1979).
- 13.- Butzler J.P.: "Campylobacter enteritis a new disease". Acta gastroenterologica, Belgica, 44: 301-307 (1981).
- 14.- Caldwell B., Walker R., Stewart S. and Coolbaugh J.C.: "Simple adult rabbit model for *campylobacter jejuni* enteritis". Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol. New Orleans p.42 (1983).
- 15.- Carman P.S., Povey R.C.: "Experimental challenge of dogs with canine parvovirus". Vet. Rec., 107: 447 (1980).
- 16.- Carman P.S., Povey R.C.: "Pathogenesis of canine parvovirus-2 in dogs: hematology, serology, virus recovery, histopatology and antigen identification in tissues". Res. Vet. Sci., 38: 134-150 (1985).
- 17.- Carman. P.S.: "Successful experimental challenge of dogs with canine parvovirus 2 Can. J. Comp. Med. 46:33 (1982).

- 18.- Carmichael L.E., Joubert J.C. and Pollock R. V.H.:
 "A modified hire canine parvovirus raccined.II. Immune response".
Cornell Vet., 73f:13-29 (1983).
- 19.- Carmichael L.E., Joubert J.C. and Pollock V.M.:
 "Hemagglutination by canine parvovirus: Serologic studies and
 diagnostic applications". Am J Vet. Res., 41: 784-791 (1980).
- 20.- Coles E.: Diagnóstico y patologia en Veterinaria 4a. Ed.
Interamericana. México, 1992.
- 21.- Correa. P.: Enfermedades Virales de los animales Domésticos
 4a. ed. vol. 1. Ed.FH. México, D.F.
- 22.- Cooper J.B., Carmichael L.E., Appel J.G. and Greisen H.:
 "Canine viral enteritis.II. Morphologic lesions in naturally
 occuring parvovirus infection". Guest Edit., 21:134-143.
- 23.- Dillon A.R., Wilt G.R.: "Campylobacter species in the dog and
 cat". Vet. Clin. N. A./ S. An. Pract., 13: 641-651 (1983).
- 24.- Dillon A.R., Scott R., Blevins W.T. and Puss N.:
 "Campylobacter Enteritis in dogs and cats". Comp. Cont. Educ. 12:
 1176-1183 (1987).
- 25.-Ettinger J.S.: Textbook of Veterinary Internal Medicine
 Diseases of the dog and cat. Vol. 1 Copyright. U S A. 1993.
- 26.- Euzeby J.: "Les coccidies parasites du chient et du chat.
 incidence. pathogeniques et epidemiologiques". Revue Med. Vet.
131: 43-46 (1980).

- 27.- Evans J.M., Lane D.R. and Hendy P.G.: "The profile of small animal practice". J. Small Anim. Pract., 15: 595-597 (1974).
- 28.- Fenner R.W.: Medicina Veterinaria de Perros y Gatos. Métodos de Diagnóstico Rápido. 1a. ed. Ed. Noruega, México, 1989.
- 29.- Fiscus S.A., Mildbrand M.M., Gordon J.C., Teramoto Y.A., Winston S.: "Rapid enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies to canine parvovirus". Am J. Vet. Res., 46: 859-863 (1985).
- 30.- Fox J.G., Krakowka S., Taylor N.S.: "Acute-onset Campylobacter associated gastroenteritis in adult Beagles". J. Am. Vet. Med. Assoc., 187:1268-1271 (1985).
- 31.- Fox J. C., Moore R., Ackerman J.I.: Campylobacter jejuni associated diarrhea in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 183: 1430-1433 (1983).
- 32.- Hammond M.N. and Timoney P.J.: An electromicroscopic study of viruses associated with canine gastroenteritis Cornell Vet., 73: 82-97 (1983).
- 33.- Hendrix C.M. and Blagburn B.L.: "Common gastrointestinal parasites". Vet. Clin. N. A./ S. An. Pract. 13: 627-645 (1983).
- 34.- Hirasawas, Watanabe K., Mikazuki K., Makino S. and Hayashi Y.: "Out break of canine parvovirus infection and its elimination in a closed beagle dog colony". J. Vet. Med., 34: 598-606 (1987).

- 35.- Jain, C. Veterinary hematology. 4a ed. Lea & Febiger USA 1986.
- 36.- Jeffrey M.K., Paul C.M.: " Canine Parvovirus: update". Vet. Med. 1: 1541-1546 (1981).
- 37.- Kaneko J.J.: Clinical Biochemistry of Domestic Animal. 4a. Ed.. Academic Press Inc., San Diego California, 1989.
- 38.- Kelly W.R.: Diagnostico Clinico Veterinario. CECSA. México, D. F. 1983.
- 39.- Krakowka, S., Olsen., R. G., Axthelm N. K., Rice and Winters, K.: " Canine parvovirus infection potenciales canine distemper eacephalitis atributable to modified live-virus vaccine". J. Am. Vet. Med. Assoc., 180:137 (1982).
- 40.- Kramer J.M., Meunier P.C. and Pollock R.V.H.: "Canine parvovirus update". Vet.Med.Small Anim. Clin., 75: 1541-1555. (1980).
- 41.- Lindsay S. and Byron L.: "Coccidial Parasites of cats and dogs". Compend. Contin. Educ. 13 : 759-765 (1991).
- 42.- Mason, J. M., Gillet, A. N. and Muggenburg, B. A.: "Clinical, Pathological, and Epidemiological Aspects in Canine Parvoviral Enteritis in an Unvaccinated Closed Beagle Colony". J. Am. An. H. Assoc. : 183-192 (1987).

- 43.- Mathys A., Mueller R., Pedersen N.C., Theilen G.H.: "Comparison of hemmagglutination and competitive enzyme-linked immunosorbent assay procedures for detecting canine parvovirus in feces". Am. J. Vet. Res. 46:859-863 (1985).
- 44.- Medway P.W.: Patologia Clinica Veterinaria. UTEHA, Mexico, 1986.
- 45.- Olsen C.G., Stiff M.I. and Olsen R.G.: " Comparison of the blastogenic response of peripheral blood lymphocytes from canine parvovirus-positive and negative outbred dogs". Vet. Immunol. Immunopathol. 6:285-290 (1990).
- 46.- Palacios A.J., Soto P.M. y Del Toro E.Q.: "Evaluación de la respuesta inmune contra parvovirus (vpc). en 121 sueros provenientes de perros vacunados y no vacunados de la ciudad de México. Biotell D.: 1-4 (1982).
- 47.- Pollock, P. V. H. and Carmichael, L.: " Canine viral enteritis recent developments. Med. Vet. Pract., 60:375-380 (1979).
- 48.- Pollock, V. H., and Coyne, J.: "Canine parvovirus". Vet. Clin. N. A./ S. Am. Pract., : 555-567 (1993).
- 49.- Pollock R.V.H.: "Experimental canine parvovirus infection in dogs". Cornell Vet. 72:103-119 (1982).
- 50.- Potgieter L.N.D., Jones J.B., Patton C.S. and Webb Martin T.A.: "Experimental parvovirus Infections in Dogs". Can. J. Comp. Med. 45: 212-216 (1981).

- 51.- Rice J.B., Winters K.A., Krakowka S., Olsen R.G.: "Comparison of systemic and local Immunity in dogs with Canine Parvovirus gastroenteritis". Infec. Immun., 38: 1003-1009. (1985).
- 52.- Rivera E., Karlson K.A.: " A solid-phase fluorescent Immunoassay for Detecting Canine or Mink Enteritis Parvoviruses in Fecal Samples". Veterinary Microbiology, 15:1-9 (1987).
- 53.- Robinson, W. F., Wilcox, G. E. and Flower, L. P.: "Canine parvoviral disease: experimental reproduction of the enteric form with parvovirus isolated from a case of myocarditis". Vet. Pathol., 17:589-599 (1980).
- 54.- Senda M., Hirayama N., Yamamoto M. and Kurata K.: " An improved hemoagglutination test for study of canine parvovirus". Vet. Microbiol., 12: 1-6 (1986).
- 55.- Soto P.M.A.: Lesiones Histopatológicas y su Posible Asociación con el Parvovirus Canino. Tesis de licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. UNAM, México, D.F. 1986.
- 56.- Soto P.M.A., Palacios A.J., Del Toro E.D.: Prueba de Hemoaglutinación en Heces como Diagnóstico de Infección por Parvovirus Canino. BIOTELL, México, D. F. 1992.
- 57.- Strombeck D.R. : Small Animal Gastroenterology. Stronegate Publishing University of California, 1979.

58.- Tinsley T.W.: "Parvoviruses". J. Gen. Virol., 4:,
7-15 (1983).

59.- Trigo J.F.: Ciencia Veterinaria, Vol. 4. UNAM. México,
1987.

60.- Villalobos V.G.N.: Guía de Pruebas Clínicas Hematológicas en
Caninos. Tesis profesional. FES-C UNAM. Edo. de México, 1988.

61.- Willard M. D. y Tvedten H.: Diagnóstico clinicopatológico
práctico en los animales pequeños , Interacademica, Argentina
1993.

62.- Zajac A.M.d: " Giardiasis". Comp. Cont. Educ., 14:604-608
(1992).