

7
2ef



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

APLICACION TERAPEUTICA DE
INTERFERON ALFA HUMANO EN
PERROS AFECTADOS CON PARVO-
VIRUS CANINO TIPO 2 Y SU
EVALUACION CLINICA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

JESUS VLADIMIR BLANCAS SANCHEZ

ASESORES:

M.V.Z. LUIS ANTONIO CALZADA NOVA

M.V.Z. GABRIELA CALZADA NOVA



MEXICO, D. F.

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

257672



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



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.

**APLICACIÓN TERAPÉUTICA DE INTERFERÓN ALFA HUMANO EN PERROS
AFECTADOS CON PARVOVIRUS CANINO TIPO 2 Y SU EVALUACIÓN
CLÍNICA**

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

JESÚS VLADIMIR BLANCAS SÁNCHEZ

Asesores:

MVZ LUIS ANTONIO CALZADA NOVA

MVZ GABRIELA CALZADA NOVA

México D.F.

1998

AGRADECIMIENTOS.

A mis padres: Nicolás y María de Lourdes por todo su apoyo y comprensión.

A mis hermanos: Carlos y Nicolás por ser mis mejores amigos.

A Luis Antonio y Leticia por su ayuda desinteresada por completar mi formación y sobre todo por la amistad que me han brindado.

A nuestra ALMA MATER por la oportunidad que me dió.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
RESULTADOS.....	16
DISCUSION.....	18
LITERATURA CITADA.....	21

RESUMEN

JESUS VLADIMIR BLANCAS SANCHEZ. Aplicación terapéutica de interferón alfa humano en perros afectados con Parvovirus Canino Tipo 2 y su evaluación clínica (bajo la asesoría de MVZ Luis Antonio Calzada Nova y MVZ Gabriela Calzada Nova). Realizada en una clínica veterinaria particular.

En los últimos años la investigación biomédica en su preocupación por disminuir la alta incidencia de enfermedades virales en humanos, ha desarrollado interferón alfa humano, para inhibir la replicación viral: bajo este planteamiento se pretende la utilización de este fármaco para la recuperación de los perros afectados por el Parvovirus Canino tipo 2. El diseño del presente trabajo corresponde a un ensayo clínico de tipo observacional, longitudinal y prospectivo. Los criterios de inclusión que debieron cumplir los pacientes fueron: 1) cachorros de 8 a 16 semanas de edad, desparasitados, sin importar antecedentes de vacunación, ni raza ni sexo; 2) cursar con signos gastrointestinales específicos de PVC-2; 3) no haber cursado con enfermedad diarreica previa a los signos prodrómicos de al menos 1 semana; 4) Con prueba positiva a PVC-2 mediante la técnica de ELISA; 5) Con inicio de signos clínicos gastrointestinales específicos de PVC-2 no mayor de 48 horas; 6) con peso corporal mínimo de 7 kg. Se evaluaron a 40 perros enfermos clínicamente de PVC-2, de los cuales 20 formaron el grupo de estudio y 20 formaron el grupo control. Ambos grupos recibieron terapia sintomática, la cual incluyó terapia de líquidos y electrolitos, antibióticos, analgésicos e inhibidores de receptores h2. Los resultados obtenidos al final del estudio mostraron una sobrevida mayor en el grupo control, y al ser evaluados bajo la prueba de chi cuadrada el resultado matemático fue mayor a 0.01 por lo que se concluyó que la aplicación de interferón alfa en pacientes afectados por PVC-2 no incrementa la sobrevida.

INTRODUCCION

De todas las familias de virus que existen hay una que se caracteriza por ser nueva y muy resistente: la familia Parvoviridae. Los miembros de la familia Parvoviridae poseen un virión pequeño y un genoma formado por DNA de cadena sencilla. Existen dos géneros de parvovirus: cuyos miembros infectan a los vertebrados y se replican de manera autónoma: los parvovirus; los dependovirus, que son defectivos y dependen de un virus cooperador, generalmente un adenovirus. (12).

Los parvovirus, producen infección en el cerdo, perro, gato, bovino, visón. Recientemente se ha implicado un parvovirus humano que se presenta en diversas afecciones clínicas: anemia, artritis, eritema infeccioso, fibromialgia. En el perro se han identificado tres tipos de parvovirus: el parvovirus canino tipo 1 o virus diminuto canino que fué descubierto en 1967 y del cual se desconoce su patogenicidad; los relacionados con adenovirus los cuales no son patógenos y el parvovirus canino tipo 2 (PVC-2) que es el más patógeno y difiere bastante del tipo 1 tanto genética como antigénicamente. El PVC-2 es un virus pequeño que mide 23 nm. , de simetría icosaédrica, formado con 32 capsómeros, de una sola cadena de DNA y consta de tres polipéptidos estructurales, los cuales son: VP67, VP70 y VP85 que corresponden a las regiones antigénicas virales, que carece de envoltura lipoprotéica. El comportamiento como virus DNA se debe a la presencia de una enzima: 2-bromodeoxiyuridina.(12,19, 21, 24, 29,32,34,35,37).

La parvovirosis canina fué descrita por primera vez en 1977, describiendo un aislamiento de parvovirus en perros; pero no fué sino hasta la última mitad del año 1978 donde dos nuevas enfermedades caninas hicieron su aparición simultáneamente en muchas partes del mundo, incluyendo: Australia, Estados Unidos, Canadá, Sudáfrica, Nueva Zelanda y Europa. La primera enfermedad fué una enteritis infecciosa, descrita originalmente por Kelly en 1978, que notó la

similitud del parvovirus felino en términos de signos clínicos y patología en el intestino. En un principio quienes se vieron afectados con enteritis debida a parvovirus fueron perros adultos y jóvenes. Después de algunos meses, los casos solamente se reportaron en cachorros donde también se encontró la segunda entidad: "síndrome de muerte súbita", donde el principal hallazgo patológico fué: necrosis multifocal del miocardio. Robinson y col. (1979) aislaron un parvovirus del músculo cardíaco tomado de cachorros que murieron de miocarditis. Este trabajo aportó la evidencia de que los virus aislados de las dos enfermedades eran idénticos. Los cuerpos de inclusión intranucleares hicieron pensar en una etiología viral, y estudios subsecuentes de ultraestructura revelaron partículas similares en tamaño y simetría a los parvovirus. (3, 10, 11, 18,20,21, 23,33)

Los primeros casos de enfermedad entérica asociada a parvovirus fueron aislados en Australia, simultáneamente en los Estados Unidos y subsecuentemente a nivel mundial. El primer estudio serológico retrospectivo extenso se realizó en New South Wales, Australia en 1979 de 428 muestras: 74 fueron de 1969 a 1977, 150 de 1978 y 104 de Enero a Septiembre de 1979. El estudio mostró el primer título positivo a inhibición de la hemoaglutinación (IHA) en mayo de 1978. Todos los sueros caninos anteriores a esta fecha, no mostraron títulos medibles a PVC-2. De mayo de 1978 en adelante, el número de muestras positivas se incrementó. Los resultados muestran que la enfermedad se diseminó rápidamente de 1978 a 1979 y también hubo casos diseminados de enfermedad subclínica. De 20 muestras serológicas de gato, ninguna tuvo título positivo a PVC-2 en la prueba cruzada de hemoaglutinación. Carmichael y col. (1980) encontró que el primer título positivo a IHA fué tomado en la última semana de 1978. La prevalencia de sueros positivos permaneció baja en el período comprendido de Julio a principios de Agosto de 1978 pero aumentó vertiginosamente a finales de Agosto y Septiembre. (3, 10, 11, 18,20,21, 23, 39).

Los perros se infectan por ingestión o inhalación de heces contaminadas, donde la dosis mínima infectante es pequeña y también por contacto perro a perro aunque este tipo de transmisión es poco probable que ocurra; una vez infectado el período de eliminación activa por heces dura 2 semanas. La infección de PVC-2 se presenta en perros domésticos, coyotes, zorros, perros salvajes y mapaches, y es probable que la mayoría, si no es que todos los Canideos son susceptibles a la enfermedad, además de que actúan como reservorios. En infecciones de tipo experimental, se puede producir la infección en hurones y chinchillas, sin embargo, la infección es generalmente autolimitante. En los perros domésticos, la infección de PVC-2 no necesariamente resulta en enfermedad aparente, muchos animales se infectan de manera natural y nunca desarrollan signos clínicos, esto es un factor muy importante, ya que, el individuo con infección subclínica elimina la misma cantidad de virus que un enfermo; por otro lado la cantidad de perros infectados que no presentan signología es mucho mayor que la población enferma. Cabe señalar que el paciente recuperado no transmite la enfermedad y no actúa como portador crónico. (3, 12, 17, 21, 22,24, 29, 32)

Las diferencias significativas en la predisposición racial, son las siguientes: Cobradores de Labrador de capa negra, Rottweiler, Doberman pinschers, Bull terrier american pit, Pastor alemán, Staffordshire bull-terrier, Alaskan malamute. (17,19, 21, 22,24, 29, 32,34,35)

En relación a la edad, los cachorros de 8 a 16 semanas son los más afectados, ya que pueden existir diversas situaciones que predisponen a la infección: el título de anticuerpos transferidos pasivamente a los cachorros está relacionado con el título de anticuerpos de la madre por lo que resulta bastante variable; los niveles de anticuerpos declinan progresivamente y desaparecen entre las 8 y las 12 semanas de vida. Los perros alcanzan la madurez inmunitaria después de las 16 semanas de edad. Existen además fomites que pueden diseminar la enfermedad: instrumental de cirugía, peluquería, limpieza. Los insectos y roedores pueden servir de vectores. Los perros pueden acarrear el virus sobre sus pelajes tanto

tiempo como los restos de heces contaminadas permanezcan sobre ellos. (17,19, 21, 22,24, 29, 32,34,35).

El parvovirus es el virus más resistente que se conoce: resiste el calor a 60 grados Centígrados durante 1 hora, resistente a un pH: 3, así como al tratamiento con éter. En pruebas de laboratorio sobrevive en el medio ambiente por meses: siendo infectivo por más de doce meses a -20 grados Centígrados, reduce su viabilidad a 4 grados Centígrados por doce meses y es inactivado a 20 grados Centígrados o más en dos meses. A 37 grados Centígrados los títulos de hemoaglutinación en muestras altamente contaminadas se reducen a menos de 1:10 después de un mes. En pruebas de campo en áreas expuestas al medio ambiente sobrevive por más de 5 meses aunque su capacidad infectiva disminuye desde el primer mes, la exposición directa a los rayos solares lo inactiva no antes de 4 meses, puede sobrevivir hasta 7 meses en lugares cubiertos por sombra constante y/o intermedia, como la sombra de árboles y arbustos, que además propician un ambiente húmedo constante. La variación en la sobrevivencia del virus puede estar relacionada al medio ambiente inmediato, ya que las heces que pierden 2 terceras partes de su peso original pierden poder infectivo, posiblemente algunos compuestos fecales ayuden a conservar viable al virus. No lo afectan los detergentes comerciales por carecer de envoltura lipoporotéica. El hipoclorito de sodio (blanqueador de uso doméstico) a una dilución 1:32, es el único agente desinfectante efectivo contra el PVC-2. (17,19, 21, 22,24, 29, 32,34,35).

Una vez que los virus entran al organismo, para poder replicarse necesita células con una alta tasa de mitosis, los tejidos que reúnen éstas características son: el linfoide, el hematopoyético y el epitelio entérico; ya en las células de estos tejidos las partículas infectantes son transportadas al núcleo. Los parvovirus se replican en los núcleos de las células en división las cuales deben estar al final de la fase S o al inicio de la fase G2 del ciclo mitótico. Durante el proceso se han identificado 2 unidades principales de transcripción traslapadas, donde se transcriben 3 RNA-m

poliadenilados principales que están empalmados, los RNA-m tienen un mensajero común: RNAm 3'. Los RNA-m son transportados al citoplasma, ahí el RNA más abundante codifica proteínas estructurales que aparecen al final de la infección. Existen tres proteínas estructurales: VP67, VP70 y VP85 derivadas de una secuencia común del mismo molde. La VP70 que ocupa el 80% de la proteína total deriva de la VP67 mediante división post-transduccional. La replicación DNA se da por medio de transformación de cadena sencilla a cadena doble, este mecanismo mediado posiblemente por DNA polimerasas del tipo alfa y gama del huésped. El DNA es acoplado oportunamente a la posición adyacente de la terminal 5' de la cadena viral, después ocurre síntesis de DNA, tras la replicación se ensamblan cápsides víricas en el núcleo dentro de las cuales se localiza DNA de cadena sencilla de la progenie. Las cápsides virales permanecen en el núcleo y los agregados virales pueden ser observados como cuerpos de inclusión intranucleares. Los parvovirus se diseminan por lisis celular y liberación extracelular. (7,29, 33).

Conociendo que el mecanismo de replicación viral del PVC-2 es el mismo en todos los tejidos "blanco" y tomando en cuenta las variaciones de virulencia y patogenicidad según la cepa, la fisiopatología de la parvovirus canina es la siguiente.

El parvovirus se disemina rápidamente en los perros vía oro-nasal; una vez que el virus entra al organismo, se detecta viremia al primer día (El pico de viremia varía desde el primero hasta el quinto día post-infección). Al segundo día post-inoculación oral, los sitios primarios de replicación son: tejidos linfoides de la orofaringe, linfonódulos mesentéricos, Placas de Peyer y timo y se disemina a las criptas intestinales del intestino delgado, se piensa que esta etapa de replicación es necesaria para que se presente la forma entérica, ya que perros inoculados directamente en el intestino presentan signología ligera y una buena recuperación. Según Olsen y col. todos estos acontecimientos bloquean el sistema de inmunidad inmediata, esto ocurre antes de su fase reproductiva en el epitelio intestinal, el

PVC-2 interrumpe la actividad mitogénica de los linfocitos T lo que favorece un estado de inmunodeficiencia que se ha confirmado con estudios en concavalina y fitohemoaglutinina. Después de la viremia el PVC-2 se detecta predominantemente en el epitelio de la lengua, cavidad oral y esófago, intestino delgado, médula ósea. Y también puede aislarse de los pulmones, bazo, hígado riñones y miocardio. Al tercero y cuarto días, es donde empieza la excreción activa del virus por las heces, la cual puede durar de 7 a 10 días de manera importante, al mismo tiempo que la destrucción del epitelio germinal de las glándulas intestinales, es severo, llevando a la pérdida de la función y arquitectura normal del intestino, provocando: hemorragia, mala digestión, mala absorción y absorción de toxinas. Como resultado, el recambio celular se desequilibra, las vellosidades se ven acortadas. El PVC-2 también destruye células mitóticamente activas: como los precursores de leucocitos circulantes y células linfoides (células madres pluripotenciales) por lo que se identifica la presencia de leucopenia en el 100% de los casos, en algún momento de la enfermedad, de los cuales los más graves se identifican por linfopenia, neutropenia, desviación a la izquierda no regenerativa y neutrófilos tóxicos.(12,22,25,26)

El cuadro clínico presenta dos etapas: los signos prodrómicos que son letargia, depresión, anorexia, adinamia fiebre e hiperemia tonsilar que se presentan en los primeros cuatro días post-infección, y la etapa de signos específicos de enfermedad intestinal los cuales son: vómito, deshidratación, diarrea líquida hemorrágica, dolor abdominal y leucopenia que se manifiestan al quinto día post-infección. Los factores que predisponen a un cuadro más severo incluyen: edad, stress, genética (con diferencia de susceptibilidad entre cada raza), cantidad de inóculo, virulencia y patogenicidad del virus, cuando esto ocurre la enfermedad es más severa en cachorros siendo en su mayoría perros entre las 8 y 18 semanas, y su presentación más frecuente es la de enteritis hemorrágica aguda. Se han reportado casos de parvovirus canina con presentación miocárdica, pero estos cuadros clínicos son raros. El cuadro clínico puede ser más severo cuando concurre con infecciones causadas por parásitos que en su mecanismo

patogénico posean la propiedad exfoliatriz, protozoarios, coccidias, ya que incrementan el recambio celular; y ciertas bacterias entéricas como: Clostridium perfringens, además de diversas especies de Campylobacter y Salmonella. las cuales producen bacteremia, endotoxemia y coagulación intravascular diseminada.(4, 11,14,19, 22, 24,27,34,34).

La aparición súbita de diarrea con sangre maloliente en un cachorro, es asociada frecuentemente con infección por PVC-2. Sin embargo, todos los perros con diarrea sanguinolenta (con o sin vómito) no están necesariamente infectados con PVC-2; el distemper canino y la hepatitis infecciosa canina, la salmonelosis, la giardiasis, y la coccidiosis entre otras causas; pueden producir diarrea sanguinolenta en algunos perros. Todos los signos clínicos característicos de infección por PVC-2 rara vez se presentan conjuntamente. (11,34,35).

Ante los primeros brotes, cuando un cachorro presentaba enteritis y diarrea sanguinolenta; las heces eran procesadas y se demostraba la presencia de partículas virales por medio de microscopía electrónica, lo cual era y sigue siendo impráctico. El PVC-2 tiene la propiedad crecer en una amplia gama de células, incluyendo: caninas, felinas, bovinas, de mono, mapache y mink. En estas células produce cuerpos de inclusión intranucleares, grandes, basofílicos, los cuales pueden aparecer a las 36 horas después de haber sido incubado el material clínico: (heces) por lo que se utilizó un tiempo como método diagnóstico, pero el crecimiento celular es tardado. Se encontró que el virus puede aglutinar eritrocitos de cerdo y de mono Rhesus a 4 grados centígrados por lo que esta capacidad se utiliza para detectar unidades hemoaglutinantes en las heces de los perros afectados; haciendo de la prueba de hemoaglutinación la prueba más ampliamente utilizada para el diagnóstico de parvovirus canina; la inhibición de la hemoaglutinación se utiliza para confirmar el diagnóstico ya que existen algunas hemoaglutininas fecales que pueden dar falsos positivos, una desventaja de estas dos pruebas es que requieren de 3 horas para confirmar el diagnóstico, su

sensibilidad es del 87% y su especificidad es del 80% además de que solo puede realizarse en laboratorios equipados y por personal capacitado. (12).

Hoy día están disponibles las pruebas de ensayo inmunoabsorbente asociado a enzimas, "ELISA"¹ la cual consiste en revestir superficies de poliestireno con anticuerpos específicos, después se lava la superficie para eliminar el exceso de anticuerpos que no se hayan unido a la superficie, se agrega la solución de antígeno (materia fecal), y luego se lava; en seguida se añade el anticuerpo específico, la antiglobulina marcada con la enzima y el sustrato. En este método la intensidad del color de la reacción está relacionada directamente con la cantidad de antígeno unido. Estos kits son sensibles y altamente específicos: 97% para detectar antígeno lo cual se ha confirmado por controles de calidad realizados a estas pruebas diagnósticas de los laboratorios de donde son producidos. Todos los kits se basan en la detección de antígeno. El período de eliminación de antígenos por las heces es algunas veces cíclico y corresponde de 5 a 7 días de enfermedad clínica. El antígeno de PVC-2 es rara vez detectable después de 10 ó 12 días de infección. Además una muestra directa del recto de un cachorro sospechoso es más sensible para detectar PVC-2 que una muestra tomada de una evacuación. El resultado positivo a ELISA confirma la infección; un resultado negativo no elimina la posibilidad de infección. (12, 19,24,29,32,34,35).

La terapéutica de la parvovirus canina se concentra, actualmente a: mantenimiento de la hidratación, corrección de alteraciones electrolíticas, prevención de infecciones secundarias, control del dolor abdominal, prevención de la desnutrición. Una premisa "máxima" que se ocupa en la clínica es siempre orientar la terapia para eliminar el agente etiológico. En este contexto contra la parvovirus canina se han intentado diversas drogas y diversos protocolos de tratamiento para evitar la replicación y efectos patógenos de los virus, entre estos medicamentos se ha descrito al suero hiperinmune, el factor de transferencia, la ribavirina, colonia estimuladora de monocito y granulocito y

¹ PROBE. PARVO LABORATORIOS IDEXX: PARIS FRANCIA. (1) 34 30 02 00

aciclovir con resultados contradictorios, poco conclusivos para recomendarlos como terapia específica para tratar esta enfermedad. (14,19).

Uno de los efectos humorales de defensa que inducen las infecciones de etiología virales en los mamíferos es la producción de interferones. Los interferones son una familia de proteínas con una amplia acción antiviral, los cuales han sido aislados de fibroblastos infectados o de leucocitos. Este tipo de proteínas han sido clasificadas en tres grupos: tipo I: interferón alfa leucocitario, el tipo II: interferón beta fibroblástico, y el tipo III: interferón gama inmune. Casi todas las células del organismo sintetizan interferones, pero la médula ósea, bazo, macrófagos y leucocitos, son los principales productores de interferón alfa; se han identificado en la síntesis más de una docena de interferones alfa diferentes, los cuales comparten el 77% de las secuencias de aminoácidos. La cantidad de interferón producido varía con cada tipo de virus, ya que los virus DNA de lenta replicación son malos inductores de interferón, mientras que los virus RNA en general son buenos inductores de interferón. Todos los interferones tienen alta actividad específica y son generalmente más efectivos cuando actúan sobre células de las especies donde son inducidos, esto debido, probablemente a la naturaleza del receptor celular.(7, 8, 37).

El interferón alfa, así como otros interferones, tienen funciones antivirales, como son: inmunomodulación estimulante, inhibición de proliferación celular, las cuales son activadas por la presencia de partículas virales maduras infecciosas o inactivadas, esto lleva a la rápida producción de RNAm para interferón y subsecuentemente su síntesis, donde ejerce su acción antiviral, la cual no es de forma directa, sino a través de genes que codifican proteínas antivirales mediante procesos enzimáticos. El interferón es liberado al torrente circulatorio, se une a su receptor de la célula adyacente. Una vez que el receptor se une al receptor, se inician los procesos enzimáticos: una proteínquinasa es sintetizada y fosforila a la proteína del factor de iniciación de síntesis, provocando la inhibición de formación del complejo de iniciación y síntesis de proteínas virales, una 2-5 oligoadenilato

sintetasa, es inducida y produce 2-5 adenilatos, los cuales activan una ribonucleasa celular que destruye a los RNAm, una inhibición de la metiltransferasa desfavorece la metilación de los RNAm, por lo que interfiere en la síntesis de proteína viral.(7, 8, 37).

En estudios clínicos recientes con interferón alfa leucocitario humano se demostró un efecto profiláctico benéfico en el tratamiento de infección por rinovirus en personas infectadas experimentalmente, así como en el tratamiento de varicela Zoster en pacientes inmunocomprometidos, también su uso ha demostrado efectividad en epidemias de influenza humana, así como la disminución de signos clínicos en enfermedades respiratorias. En casos de papilomatosis humana ha tenido cierto efecto benéfico al reducir los signos en una tercera parte de la población afectada. En pacientes afectados por el virus de la hepatitis B y hepatitis C se han obtenido resultados satisfactorios. A pesar de que en Medicina Veterinaria se tienen pocas referencias, se han reportado casos de disminución de viremias en gatos afectados con el virus de leucemia al aplicárseles interferón alfa leucocitario de origen humano.(2, 4, 5, 7, 8, 13, 15, 16, 28, 40).

Con base al marco teórico de referencia citado, se plantea que:

1. En estudios transversales de conteo leucocitario en perros afectados por PVC-2 el 86% de los pacientes cursaron con leucopenia, pero en estudios longitudinales se observó que el 100% de los pacientes en algún momento presentaron leucopenia en donde la severidad y duración de la misma guarda una relación directamente proporcional con la probabilidad de muerte y el perro afectado por parvovirus al cursar con leucopenia, teóricamente, disminuye la probabilidad de sintetizar interferón alfa leucocitario endógeno.(12, 14, 22, 24).

2. El PVC-2 es un virus DNA y por lo tanto un pobre inductor de interferón, cabe citar que las indicaciones de uso de interferón alfa leucocitario en humanos es principalmente contra virus DNA, como el de la hepatitis B, papilomavirus humano

y herpes simple. Lo que ofrece buenas expectativas teóricas para el tratamiento de la parvovirus canina.(2, 8, 12, 13, 16,28, 30, 36,37).

3. En gatos se ha utilizado con éxito el interferón alfa leucocitario de origen humano para atenuar signos y viremias de VLF, lo que da la posibilidad de aplicar interferón heterólogo en otras especies animales, con expectativas de éxito favorables.(5, 9, 15,40).

Con lo antes expuesto se propone la aplicación terapéutica de interferón alfa de origen humano² en perros afectados con parvovirus canino tipo 2.

El interferón alfa de origen humano es una preparación estable, estéril y altamente purificada producido por la tecnología de recombinación de DNA. Se obtiene a partir de la fermentación bacteriana de una clona de *Escherichia coli*, que posee un plásmido genéticamente manipulado e hibridizado con un gen de interferón alfa 2b de leucocitos humanos. El interferón alfa es una proteína hidrosoluble con un peso molecular de aproximadamente 19,300 daltons.

El interferón alfa se expresa en términos de unidades internacionales, las que son determinadas comparando la actividad del interferón alfa 2b con la actividad de la preparación del estándar de referencia internacional de interferón leucocitario humano, establecido por la Organización Mundial de la Salud.

² INTRON A. LABORATORIOS SCHERING PLOUGH.

HIPOTESIS

Hipótesis nula: La aplicación de interferón alfa de origen humano incrementa la sobrevida en pacientes afectados con parvovirus canino tipo 2.

Hipótesis alterna: La aplicación de interferón alfa de origen humano no incrementa la sobrevida en pacientes afectados con parvovirus canino tipo 2.

OBJETIVO

Evaluar la respuesta y sobrevida de los pacientes afectados con PVC-2 después de la aplicación de interferón alfa de origen humano.

MATERIAL Y METODOS

El diseño de este trabajo correspondió a un ensayo clínico de tipo observacional, longitudinal, prospectivo el cual se llevó a cabo con pacientes de una clínica veterinaria privada. Se utilizaron 40 perros: 20 formaron el grupo control y 20 el grupo con tratamiento con interferón alfa.(1,29,38).

A todos los perros se les realizó: historia clínica, exámen coproparasitológico mediante técnicas de: frotis húmedo directo, tamizado y flotación con solución glucosada saturada con una gravedad específica de 1.180, hemograma y prueba de ELISA para identificación de PVC-2 en heces para poder aplicar los criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión que debieron cumplir los pacientes:

1. Cachorros de 8 a 16 semanas de edad, desparasitados, sin haber importado antecedentes de vacunación, ni raza ni sexo.
2. Cursar con signos gastrointestinales específicos de PVC-2.

3. No haber cursado con enfermedad diarreica previa a los signos prodrómicos de al menos 1 semana.
4. Con prueba positiva a PVC-2 mediante la técnica de ELISA.
5. Con inicio de signos clínicos gastrointestinales específicos de PVC-2 no mayor de 48 horas.
6. Con peso corporal mínimo de 7 kg.

Criterios de exclusión que fueron considerados:

1. Demostración de infestaciones parasitarias concurrentes con el cuadro clínico.
2. Presentar deshidratación mayor al 10% o estado de choque.
3. Presentar desnutrición previa al inicio de los signos prodrómicos.

Los pacientes permanecieron en jaulas a temperatura ambiente hasta el final de la evolución de la enfermedad. El plan terapéutico fué: terapia de líquidos con solución Hartman con glucosa al 5%. Terapia sintomática con analgésicos como Flunixin de Meglumina (1.1 mg/kg/24 hrs/5días), antibióticos: gentamicina (4mg/kg/24hrs/7 días), ampicilina (11 mg/kg/12 hrs/7 días), antiácidos: ranitidina (4mg/kg/12 hrs/7 días). La dosis de interferón alfa para el grupo A fué de 200,000 UI/kg de peso, con una frecuencia de 24 horas entre cada aplicación. Se realizó examen coproparasitoscópico diariamente, durante la hospitalización del paciente, con técnicas de frotis húmedo directo, tamisado y flotación con solución glucosada saturada.

Se elaboraron registros de progreso de los pacientes cada 8 horas, donde se incluyeron los siguientes datos: tipo y frecuencia de vómito, tipo y frecuencia de diarrea, anorexia, depresión, dolor abdominal, peso, grado de deshidratación, estado corporal, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, pulso, tiempo de llenado capilar, temperatura y plan terapéutico a seguir.

Los criterios de eliminación fueron:

1. La interrupción de la estancia del paciente en hospitalización antes de la resolución de la enfermedad.
2. Cualquier alteración en el tratamiento en base a fármacos, frecuencias y dosis.
3. Falta de evaluación y registro del paciente.
4. Demostración de infestaciones parasitarias concurrentes con el cuadro clínico.

La evaluación estadística de la información con respecto a la sobrevida y mortalidad de la población se realizó con base a la prueba de chi cuadrada.(6).

RESULTADOS

Grupo A (grupo tratado con interferón alfa leucocitario de origen humano).

Este grupo fué conformado por 20 perros, 18 fueron de la raza Rottweiler y 2 fueron de la raza Mastín Inglés. De los cuales 14 fueron machos y 6 fueron hembras.

La edad de los pacientes fluctuó entre los dos meses y dos meses-tres semanas de edad, siendo el promedio 2 meses 15 días.

De acuerdo al diseño del presente ensayo clínico, en el grupo A se observó una sobrevida del 20% y una mortalidad del 80%.

Los días de evolución de enfermedad de los pacientes, desde el inicio de los signos prodrómicos hasta el ingreso al ensayo clínico fué de 3 a 5 días, siendo el promedio 4 días.

La evolución de la enfermedad en este grupo fué desde 2 hasta 5 días siendo el promedio de 3.5 días.

El número de dosis de Interferón alfa humano administradas en promedio fué de 3.2 dosis. En los sobrevivientes el promedio observado fué de 4 dosis y en el resto fue de 3.5.

Grupo B (grupo control).

Este grupo fue integrado por 20 perros, de los cuales 9 fueron de la raza Rottweiler, 3 Pastor alemán, 2 Maltés, 1 Pastor Belga, 2 Criollos, 1 Mastín, 1 Gran Danés y 1 Poodle.

El 65% de los pacientes fueron machos y el 35% fueron hembras.

El promedio de edad en esta población fue de 2 meses 21 días, las edades fluctuaron desde 2 hasta 4 meses.

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

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

Los resultados obtenidos se sometieron a la prueba estadística de chi cuadrada.

Hipótesis nula: La aplicación de interferón alfa de origen humano incrementa la sobrevida en pacientes afectados con parvovirus canino tipo 2.

Hipótesis alterna: La aplicación de interferón alfa de origen humano no incrementa la sobrevida en pacientes afectados con parvovirus canino tipo 2.

Después de observar los resultados obtenidos mediante la prueba de chi cuadrada: se acepta H_a .

DISCUSION

Después de haber comparado a los grupos: A (con tratamiento) y B (grupo control) mediante la prueba estadística de chi cuadrada se concluye que los perros afectados con PVC-2 y tratados con interferón alfa de origen humano no incrementa la sobrevida. Sin olvidar que este diseño corresponde a un ensayo clínico lo que conlleva a una limitante en el control de las variables, más sin embargo, permite establecer una aproximación más real a la utilización de un fármaco para el tratamiento de pacientes enfermos.

Al analizar el concepto de mortalidad, se aprecia una clara diferencia entre el grupo control y el grupo de estudio, donde los porcentajes fueron de 55 y 80 respectivamente. Estas diferencias pueden deberse a diversos aspectos que a continuación se discuten.

- a) Dosificación: se aplicó a cada paciente 200,00 UI por kilogramo de peso cada 24 horas. Esta dosis empírica se considera adecuada dado que, los pacientes que fueron tratados con esta, mostraron reacciones secundarias comunes y observadas en otras especies de acuerdo a las referencias bibliográficas y a las citas técnicas del laboratorio que fabrica el producto. Entre las reacciones que se citaron con anterioridad la que fué más notoria en los pacientes fué la depresión. Este proceso iniciaba a la siguiente media hora después de administrado el producto y permanecía hasta por 8 horas lo que nos hizo pensar en un alcance de niveles séricos terapéuticos.
- b) En el ensayo, el intervalo entre dosis fue de 24 horas. Como se recomienda para la medicación de las enfermedades más graves susceptibles de ser tratadas con interferón alfa, como sería: papilomatosis humana y leucemia viral felina en el gato. Aún cuando la toxicidad del interferón permite hasta 100 veces las dosis terapéuticas, las reacciones secundarias observadas en los perros mostraron estadios de depresión prolongados, sugerentes que un

intervalo menor podría incrementar estas reacciones secundarias interfiriendo con la recuperación del paciente.

- c) El factor genético es una condición que cada vez vamos a ver citado como factor predisponente en muchas enfermedades en el futuro, por lo tanto es relevante resaltar que si bien los grupos comparados presentaban una gran cantidad de perros de raza Rottweiler, en el grupo de estudio esto fue más constante debido a que de los 20 estudiados 14 fueron de esta raza, comparados con lo observado para la raza en el grupo control y sustentados en la literatura científica podríamos tener modificaciones en los resultados debido a que estos perros son más predisponentes a la infección por PVC-2. Por otro lado de los 14 cachorros de la raza antes citada todos ellos corresponden a 2 camadas lo que hace pensar la posibilidad de una mayor susceptibilidad a la parvovirus canina de índole familiar, si comparamos al grupo control en donde tan solo tres Rottweiler resultaron ser hermanos.

Estas diferencias en la cantidad de perros "genéticamente" predispuestos y de un origen familiar común en el grupo de estudio hacen pensar que puede ser motivo de sesgo en los resultados finales, sin embargo, al pretender usar un medicamento con fines terapéuticos este debe mostrar resultados favorables aún en el individuo más susceptible.

- d) La respuesta negativa que tuvo la aplicación del interferón alfa de origen humano en los perros afectados por el PVC-2 con signología clínica es probable que se haya debido a la falta de receptores especie-específicos; esto se explica debido a que ratas gestantes tratadas con interferón alfa humano no mostraron evidencias de teratogénesis en las crías de las ratas tratadas; por otro lado en algunos reportes de tratamiento de conjuntivitis viral en humanos el uso del interferón fue eficaz incluso en los periodos de incubación lo que hace pensar en el uso del interferón para el tratamiento del PVC-2 en el periodo de incubación podría mejorar la sobrevida de los pacientes.

e) Una variable independiente definitivamente no controlada en el presente ensayo, resulta ser la virulencia, patogenicidad y cantidad de inóculo de PVC-2 para cada individuo. Estos tres factores, definitivamente, pueden modificar el resultado final, sobre todo si comparamos que el grupo de estudio fue un grupo de origen más homogéneo en donde se incluyeron cachorros provenientes de 2 camadas, que muy probablemente fueron infectados por la misma cepa viral que a la postre fue altamente virulenta y patógena, dado que produjo la muerte de todos los cachorros, en el grupo control este fenómeno no sucedió y los cachorros, tenían diversos orígenes, lo que permitiría considerar que no todos fueron de la misma cepa y la cantidad de inóculo fue homóloga. En este aspecto el ensayo clínico resulta uno de los métodos de estudio que más se apega a la realidad clínica ya que el fármaco de estudio es valorado ante casos clínicos reales, sujetos a todas las variantes, con lo que se puede afirmar o desechar la utilidad del mismo en la práctica diaria.

Con este antecedente se afirma que el valor terapéutico del interferón alfa humano para el tratamiento de PVC-2 es limitado.

La especificidad del interferón pudo haber sido un factor que modificó los resultados del ensayo clínico y sea una de las principales causas de que el interferón no halla alcanzado las expectativas terapéuticas ante la parvovirus canina. Vale la pena en este ensayo clínico el uso de un interferón homólogo.

Los resultados pobres observados en el uso del interferón para la parvovirus canina con fines terapéuticos y aún considerando el poco control de las variables permite suponer que los efectos biológicos de interferencia viral que posee no actúan ante la replicación viral del PVC-2. No negando que puede funcionar en otro tipo de infecciones inducida por diferentes agentes etiológicos virales que no sean el PVC-2.

LITERATURA CITADA

1. Andich G. M.; Beller T.W.; y Diterich I.; Guía de la Investigación científica. 1ra edición. *Culturas populares*. México D.F. (1990).
2. Calvert C. A.: Papilomatosis viral canina. En: Enfermedades infecciosas del perro y del gato. Editado por Greene C.A. *Nueva Editorial Interamericana* . México D.F. 1993.
3. Carmichael L.E.; Flores C. R.; Trigo T. F.; Mori-Illa A.; y Alanis J.: Seminario sobre enfermedades infecciosas de los perros . *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM*. México D. F. (1988).
4. Castro E.; Fogel F.; y Camerini J.: Parvovirus Canina. Recuentos de leucocitos como método diagnóstico. *Selecciones Veterinarias Vol 4* 390-392 (1990).
5. Cotter S.M.: Infección por virus de leucemia felina. En: Enfermedades infecciosas del perro y del gato. Editado por Greene C.A. 330-347. *Nueva Editorial Interamericana* . México D.F. 1993.
6. Daniel. W. Bioestadística. Edit. *Trillas*. México D.F. 1990.
7. Davis B. D.; Dulbecco R.; Einsen H.N.; and Ginsberg H.S.: Microbiology. 4th Edition. *Lippincot Company. Philadelphia* 1990.
8. Dolin R.:Antiviral Quemotherapy. Principles of Internal Medicine. Edited by Isselbacher K. J.; Braunwald E. Wilson J. D.; Martin J. B.; Franci A. S.; Kasper D. L. 1530-1538. 13th Edition. *Lippincot Company. Philadelphia* 1995.
9. Dow S.W.; Zeidner H.; and Hoover.: Tratamiento antiviral en gatos. En: *Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales*. Editado por Kirk Bonagura XI 235-240. *Interamericana de España*. Madrid, España 1994.
10. Eugster A. K.; and Nairn C.: Diarrhea in puppies: parvovirus like particules demonstreded in they're feces. *Southwest. Vet.* 30-50. 1977.
11. Farrow B. R. H.; and Love D.N.: Bacterial, Viral and other Infection problems. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the dog and cat*. Edited by: Ettinger S. J. Vol 1 269-320. 2nd Edition. *W. B. Saunders Company*.California .1982 .

12. Fenner F. *Virología Veterinaria*. 5ta. Edición. Acribia. Zaragoza España 1988.
13. Fried M. W.: Therapy of chronical viral hepatitis. *Med-Clin-Nort-Am*. Vol 80 (5): 957-972. (1996).
14. García H. J. F.: Evaluación clínica de la aplicación de factor de transferencia en perros afectados por el Parvovirus Canino Tipo 2. Tesis de Licenciatura. *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. UNAM 1996.
15. Greene C. E. Quimioterapia Antiviral. En: Enfermedades infecciosas del perro y del gato. Editado por Greene C.A. 231-235. *Nueva Editorial Interamericana*. México D.F. 1993.
16. Gonzalez M. F.; García M. C.; García B. L.; García S. A.; Pajaras J. M.; y Otero R: Long term effect Interferon alpha alone or after prednisona withdrawal in chronic hepatitis B. Interin report and review of the literature. *Hepatogastroenterology*. Vol. 42 (6): 893-899. (1995).
17. Gordon J.C.; and Angrick E.J.: Canine Parvovirus. Enviromental effects on infectivity. *American Journal Veterinary*. Vol 47: 7 1467-1467 (1986).
18. Hayes, M. s. Russell, R. G. and Babiuk, L. A.: Sudden death in young dogs with myicarditis caused by parvovirus. *Journal of American Veterinary Medicine*. Vol 174: 1197. (1979).
19. Hoskins J. D.: Update on canine parvoviral enteritis. *Companion Animal Practice*. Veterinary Medicine. 694-674. (1997).
20. Huxtable, M.S.; Howell, J., Robinson W.; Wilcox, G. E.; and Pass D. A.: Sudden death in puppies associated with a suspected viral myocarditis. *Veterinary Journal* Vol 55 37 (1979).
21. Johnson R.; and Smith J. R.:Parvovirus enteritis in dogs. *Veterinary practice*. Vol 9 197 (1979).
22. Kramer J. M.; Meuiner P. C.; and Pollock R.H.: Canine Parvovirus update. *Veterinary Medicine of Small Animal Clinician*. Vol 6: 5 1541-1555 (1980).
23. Kelly W.R.; and Atwell R.B.: Diffuse subacute myocarditis of possible viral aetiology: a cause of sudden death in puppies. *Veterinary Journal* Vol 55 36 (1979).

24. Kruth S. A.: Diarrea infecciosa en perros y gatos. En: *Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales*. Editado por Kirk Bonagura XI 263-272. *Interamericana de España*. Madrid, España 1994.
25. Meunier P. C.; Cooper B. J.; Appel M. J. G.; Lanieu M. E.; and Saluson D.O.: Pathogenesis of Canine Parvovirus Enteritis: Sequential Virus Distribution and Passive Immunization Studies. *Veterinary Pathology*. Vol 22 617-624.(1984).
26. 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. *Veterinary immunology and immunopathology*. Vol 6 285-290 (1987).
27. Palacios A. J.; Soto P. M.; y Del Tono E. O.: Evaluación de la respuesta inmune contra Parvovirus en 121 sueros provenientes de perros vacunados y no vacunados de la Ciudad de México. *Laboratorios Biotell*. México D.F. (1980).
28. Pardo M.; Marriot E.; Quiroga J. A.; and Carreño V.; Risks and benefits on Interferon alpha on the treatment of Hepatitis. *Drug safety*. Vol 13: (5) 304-316 (1995).
29. Pollock R.V.; y Carmichael L. E.: Enteritis viral canina. . En: *Enfermedades infecciosas del perro y del gato*. Editado por Greene C.A. 280-293. *Nueva Editorial Interamericana* . México D.F. 1993.
30. Ramirez M. I.; Namihira G.D.; Moreno A.L.; y Sosa De M. C.: El protocolo de Investigación 2da. Edición. *Trillas México D.F.* 1990.
31. Reichman R.C.: Human papillomatosis infection. *Principles of Internal Medicine*. Edited by Isselbacher K. J.; Braunwald E. Wilson J. D.; Martin J. B.; Franci A. S.; Kasper D. L. 1536-1540. 13th Edition. *Lippincot Company*. Philadelphia 1995.
32. Sherding R.G.: Virus intestinales. En: *Manual clínico de pequeñas especies*. Editado por: Birchard S. J. y Sherding R.G. 129-137 *Mc Graw hill Interamericana México D. F.* (1996).

33. Surleax M. Bodeus M.; and Burtonboy G.: Study of Canine Parvovirus Polipeptides by immunoblast analysis. *Archives of Virology*. Vol 95 271-278. (1987).
34. Swango L. J. Canine Viral Diseases. Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the dog and cat. Edited by: Ettinger S. J. Vol 1 269-320. 3rd Edition. *W. B. Saunders Company*. California . 1989.
35. Swango L. J. Canine Viral Diseases. Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the dog and cat. Edited by: Ettinger S. J. and Feldman E.C. Vol 1 398-408. 4th Edition. *W. B. Saunders Company*. California . 1995.
36. Trepo C.; Horbester R.F., Bailly F.; Pichoud C.; Beirhillon P.; and Vitkiyski L.: Treatment of hepatitis C. *Pathological Biology*. Vol 43 (8): 716-724. (1995).
37. Tyler K. L.; and Fields B.N.: The biology of viruses. Principles of Internal Medicine. Edited by Isselbacher K. J.; Braunwald E. Wilson J. D.; Martin J. B.; Franci A. S.; Kasper D. L. 1520-1524. 13th Edition. *Lippincot Company*. Philadelphia 1995.
38. Vega F.L.: Pensamiento y acción en la Investigación Biomédica. 1ra. Edición. *La Prensa médica Mexicana*. México D.F. 1991.
39. Walker S.T.; Feilen C.P.; Sabine M.; Love D.N. and Jones R.F.: Canine Parvovirus Infection in N. S. W. Australia a serological Survey. *Veterinary Records* vol 106 324 (1980).
40. Zeidner N.S.; Reversal of Feline Leukemia Virus infection by adoptive transfer of activated T Lymphocytes, interferon and zidovudine. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery Small animals*. Vol 10: 4 256-266. (1995).