



70
2ej.
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA PRUEBA
AGLUTINACION LATEX (ANI*PARVOTEST), CON UN
CONJUGADO FLUORESCENTE EXPERIMENTAL, PARA EL
DIAGNOSTICO DE LA PARVOVIROSIS CANINA”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:
ALEJANDRO MENDEZ GARCIA

ASESOR: M.V.Z. JOSE ROJO LOPEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

266592

1998



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



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

U. N. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES CUAUTITLAN
 ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

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

"Estudio comparativo de la prueba aglutinación látex (ANI*PARVOTEST), con un conjugado fluorescente experimental, para el diagnóstico de la Parvovirus Canina".

que presenta el pasante Alejandro Méndez García
 con número de cuenta: 8452221-6 para obtener el TITULO de
Médico Veterinario Zootecnista

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

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo de Méx, a 26 de Mayo de 1998

PRESIDENTE	M.V.Z. José M. Rojo López	
VOCAL	M.V.Z. PhD. Juan A. Montaraz Crespo	
SECRETARIO	M.V.Z. Fernando Viniegra Rodríguez	
PRIMER SUPLENTE	M.V.Z. M. en C. Tonatiuh Cruz Sánchez	
SEGUNDO SUPLENTE	M.V.Z. M. en C. Alejandro Martínez Rodríguez	

EL HONORABLE JURADO

**M.V.Z. JOSE M. ROJO LOPEZ
PRESIDENTE**

**M.V.Z. PH D JUAN A. MONTARAZ CRESPO
VOCAL**

**M.V.Z. FERNANDO VINIEGRA RODRIGUEZ
SECRETARIO**

**M.V.Z. M. en C. TONATIUH CRUZ SANCHEZ
1ER SUPLENTE**

**M.V.Z. ALEJANDRO MARTINEZ RODRIGUEZ
2º SUPLENTE**

DEDICATORIA

Con todo mi respeto y mi cariño a mis padres, quienes han sido mi máximo ejemplo y el mejor apoyo en mi trayectoria personal y profesional José María Méndez Santos y Margarita García Sierra.

A mis hermanos por su amistad y cariño, a mi novia, a mis primas, a mis compañeros de la Facultad, a mis profesores y a todos los médicos que me apoyaron en mi formación, especialmente al Dr. José Rojo López, quien además de ser un gran maestro es un gran amigo.

AGRADECIMIENTOS

Al Honorable jurado, en especial a mi asesor José Rojo López por su confianza y su paciencia.

Al Dr. Juan Antonio Montaraz Crespo, director de la Facultad por su revisión y corrección de mi tesis.

Al Dr. Abel Ciprián por su ayuda y sus consejos, sin los cuales este trabajo no hubiera podido ser realizado.

Al Dr. Susana Mendoza por su valiosísima participación en mi trabajo y por su amistad.

Al Dr. Eliseo Hernández B. por sus enseñanzas y experiencias compartidas.

Al Dr. Fernando Viniegra quien me oriento y me exigio orden en mi trabajo.

A mi hermano MVZ Fernando Méndez quien me apoyó en toda mi trayectoria en la Facultad.

Y a todos mis amigos que directa o indirectamente me apoyaron y alentaron en mi trabajo, con mención especial al MVZ Mario A. Trujillo, quien me facilitó su trabajo y experiencias logradas del trabajo que antecede a este estudio.

Los recursos con los que contó el presente estudio son: el personal académico del área de Microbiología, Inmunología y Virología; así como las instalaciones del Departamento de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

PREFACIO

En los últimos años el estudio de la Inmunología ha presentado avances vertiginosos, con los que se han podido comprender diferentes mecanismos desconocidos hasta hace poco, esto incluye desde la explicación de las etiologías de algunas enfermedades hasta su patogénesis e incluso nuevos tratamientos que están dando forma a la medicina del futuro.

La importancia de la Inmunología se está haciendo presente no sólo en enfermedades que parecen tener su origen en ella (como son las enfermedades inmunomediadas), sino que se están estudiando también procesos en que la inmunidad local pudiera desempeñar un papel importante tanto en el recién nacido como en el adulto, así como en el uso y abuso de fármacos que parecen ser el origen de las superinfecciones y el regreso de enfermedades que se creían erradicadas. Es por esto que este trabajo esta encaminando a valorar las herramientas que nos proporciona esta ciencia, para poder superarnos en el ámbito profesional y en nuestra práctica diaria.

El autor.

INDICE

Resumen.....	1
Introducción	2
Objetivo e hipótesis.....	3
Problema y justificación.....	4
Materiales y Métodos.....	8
Resultados	13
Discusión	17
Conclusiones.....	21
Anexo.....	22
Bibliografía.....	43

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1.....	14
Tabla 2.....	14
Tabla 3.....	15
Figura 1.....	20
Figura 2.....	20

Abreviaturas

AL= aglutinación látex

CPV= parvovirus canino

CPV-1= parvovirus canino tipo 1

CPV-2= parvovirus canino tipo 2

CPV- 2a= parvovirus canino tipo 2 cepa a

CPV- 2b= parvovirus canino tipo 2 cepa b

DA2-L= vacuna triple canina

DNA= ácido desoxirribonucleico

HA= hemoaglutinación

IF= inmunofluorescencia

IFD= inmunofluorescencia directa

IFI= inmunofluorescencia indirecta

IHA= inhibición de la hemoaglutinación

ITCF= isotiocianato de fluoresceína

PBS= Solución amortiguadora de fosfatos

SAD= street Alabama dufferin

RESUMEN

El diagnóstico diferencial de las gastroenteritis hemorrágicas en el perro y otros cánidos son indispensables para establecer nuestro tratamiento y pronóstico, ya que desafortunadamente existen una gran variedad de enfermedades clínicamente similares. La parvovirus canina es una de ellas, la cual es una enfermedad contagiosa de alto riesgo para los animales susceptibles. Es por esto que el clínico debe contar con pruebas de diagnóstico sencillas y confiables, que le permitan generar confianza con sus clientes.

En este trabajo se hace un estudio comparativo entre la aglutinación látex contra un conjugado fluorescente experimental para inmunofluorescencia directa, en donde la aglutinación látex presenta ventajas sobre el conjugado fluorescente, ya que este presentó un porcentaje cercano al 30 % de resultados falsos positivos.

INTRODUCCION

La parvovirus canina es una enfermedad infectocontagiosa que se reportó desde 1977 en el perro (24), la cual se caracteriza por presentar un cuadro gastrointestinal agudo principalmente en cachorros jóvenes. Anteriormente era común encontrar muertes por falla cardiaca (11, 24, 39, 60).

La vía de infección es oral, teniéndose que replicar el virus en tejido linfóide y posteriormente se presenta la viremia, para después alcanzar células con gran actividad mitótica (12, 50).

A partir de el descubrimiento del parvovirus se han realizado una gran cantidad de pruebas diagnósticas, ya sea aprovechando las características hemoaglutinantes del virus, o bien por medio de pruebas específicas que detecten al virus o a los anticuerpos en sangre.

La aglutinación látex se ha utilizado desde 1896 con fines diagnósticos y se ha ido perfeccionando hasta la fecha, pero sin embargo es una prueba que puede originar resultados falsos positivos en perros recientemente vacunados con virus activos modificados, ya que el mecanismo de excreción viral se presenta de la misma manera que en la infección natural.

Por otra parte la inmunofluorescencia puede emplearse por métodos directos que detecten anticuerpos en sangre, o bien por métodos indirectos para detectar al antígeno en biopsias de intestino, por lo que se tratara de estudiar la detección del virus en heces.

OBJETIVO

I. Realizar un diagnóstico diferencial de la parvovirus canina, mediante la comparación de los resultados de la prueba de aglutinación látex, así como del conjugado experimental de inmunofluorescencia con el fin de marcar una pauta de confiabilidad y eficiencia entre ambos.

Hipótesis.

Si la prueba de aglutinación látex y de inmunofluorescencia resultan ser igualmente sensibles y específicas para detectar al CPV, entonces el resultado que se obtenga será el mismo para ambas, el cual deberá corresponder con la muestras control.

PROBLEMA Y JUSTIFICACION

El presente trabajo es una investigación de tipo comparativo, la cuál estuvo encaminada a desafiar los resultados de dos pruebas de laboratorio con características cualitativas, la aglutinación látex en tarjeta contra la inmunofluorescencia directa con un conjugado fluorescente experimental, para determinar sus alcances y limitaciones.

Se pretendió a través del estudio, comprobar que existen formas más sencillas de evaluar a los pacientes que presentan un cuadro sugestivo de esa enfermedad, teniendo la certeza de contar con una herramienta de trabajo apropiada que facilita la labor de diagnóstico. La necesidad de un diagnóstico acertado deriva del poder tomar una decisión y plantear un pronóstico al cliente teniendo en cuenta que existen varias enfermedades a diferenciar, como son: coronavirus, moquillo, giardiasis, coccidiosis, toxocariasis, anquilostomiasis, salmonelosis, clostridiasis, campilobacteriosis, pancreatitis e intoxicaciones, entre otras (12, 54).

Los animales destinados para el experimento no fueron seleccionados de acuerdo a una raza, edad o sexo en especial.

El muestreo se realizó de pacientes sospechosos, que fueron llevados a algunas clínicas privadas en el Distrito Federal y en el Valle de México.

Con pruebas específicas el diagnóstico se limita a conocer si la sospecha etiológica es o no correcta, por lo que hay que considerar los alcances de la prueba, pero sin embargo resulta de gran valor ya que se conoce que el virus tiene una gran capacidad para estar constantemente mutando, por ejemplo el virus que prevaleció en 1978 y 1979 fue el CPV-2, para el año de 1980 al virus causante lo denominaron CPV-2a y en 1984 se aisló la cepa CPV-2b (36).

Esto toma importancia en el diagnóstico clínico, ya que el período de incubación, el curso y la mortalidad se ven modificados, lo que implica la dificultad del clínico por conocer el tiempo de afectación del paciente y la complicación por el descenso rápido de anticuerpos maternos después de la vacunación en zonas endémicas (28).

A pesar de esto las distintas cepas que se han encontrado parecen ser idénticas al CPV-2 a la histopatología, inmunofluorescencia directa, microscopía electrónica e inmunoelectromicroscopía (46). En inmunofluorescencia directa en cultivo celular con antisuero hiperinmune, se presenta fluorescencia primeramente en el citoplasma y posteriormente intracelular (61).

Otra prueba altamente sensible es la aglutinación látex (8). La aglomeración de células bacterianas en presencia de un suero inmune, fue observada por Charrin y Roger en 1899, Metchrkoff en 1892, Isaef e Ivanoff en 1894, Bordet en 1895 y Washburn en 1896. De ellos, Bordet concedió mucha importancia a la reacción y buscó la explicación de su mecanismo.

Grober y Durham en 1896 llamaron la atención sobre la especificidad de la reacción y las posibilidades de aglutinación del grupo, usando por primera vez el término *aglutinina* al anticuerpo responsable de la reacción. En 1896 cuando dos autores, independientemente observaron que el suero sanguíneo de los enfermos de fiebre tífica aglutinaba los bacilos tíficos, se comprobó el verdadero valor de la reacción como medio diagnóstico (30).

En los recientes años la aglutinación pasiva ha tomado gran importancia debido a que ha sido posible extender la reacción a una gran gama de antígenos solubles, por acoplamiento químico a los eritrocitos u otras sustancias inertes, dentro de las que se incluyen la bentonita (mineral coloide), esferas de polietileno látex, la proteína A del *Staphylococcus* (6, 16, 48). Este se activa simplemente por la mezcla de las partículas insolubles. Las reacciones de aglutinación indirecta son usualmente más sensibles que las reacciones de precipitación con los mismos antígenos. Se pueden diagnosticar enfermedades bacterianas y sus toxinas, enfermedades parasitarias, virales y micóticas (6, 16). Cuando la prueba de aglutinación látex se transfiere a una tarjeta, la sensibilidad es de cuatro a cinco veces más pobre, pero a nivel de campo se ha determinado funcional (8).

En 1930 se llevaron a cabo los primeros ensayos con microscopía de luz ultravioleta. En 1941 Coon, Creech y Jones, publicaron un artículo sobre unas propiedades inmunológicas de un anticuerpo conjugado con un tinte fluorescente, demostrando que no se afecta la especificidad. El primer tinte que empleó Coons fue el B-antraceno y posteriormente en 1942 empleó fluoresceína. En 1950 y 1951 se publicaron cinco artículos que describieron detalladamente los avances en la síntesis del isotiocianato y su conjugación con anticuerpos específicos.

En 1957 se realizaron varios reportes para detectar anticuerpos específicos por pruebas indirectas, con lo cual se aumentó la especificidad de la prueba. En 1958 aparece el uso de la rodamina y sus resultados positivos, así como la aplicación con otro compuesto llamado DANS. En 1955 se comercializa el uso del microscopio de luz ultravioleta, apareciendo tintes y conjugados fluorescentes comerciales (54). La metodología de la inmunofluorescencia es una combinación de técnicas inmunológicas y citológicas. A groso modo el procedimiento consiste en poner un tinte fluorescente en contacto con proteínas séricas, reaccionando ambos químicamente. Este proceso es para elaborar un marcador o conjugador. Las preparaciones resultantes generalmente permanecen biológicamente activas. Estos conjugados fluorescentes de suero-proteínas, contienen anticuerpos específicos, que usan para detectar anticuerpos homólogos en frotis o en cortes de tejido. Los más comúnmente usados de estos métodos son llamados métodos directos o indirectos (58).

MATERIALES Y METODOS

A) MATERIALES

1. Estuche de Ani*parvotest (ANI BIOTECH OY), el cual contiene tarjetas reactivas, pipetas calibradas, hisopos, tubos de ensaye, solución amortiguadora fosfatada, reactivo control positivo.
2. Conjugado fluorescente experimental.
3. Acetona absoluta (fijador).
4. Portaobjetos
5. Papel estaño.
6. Microscopio de luz ultravioleta.
7. Cámara húmeda.
8. Vacunas comerciales que incluyen al Parvovirus Canino tipo 2, distemper canino cepa Onderstepoort, Adenovirus canino tipo 2 cepa Ditchfield, virus de la rabia cepa S.A.D. Y bacterina de *Leptospira canicola* e *icterohemorrhagiae*.

El conjugado fluorescente experimental (ITCF) fue elaborado por un tesista que lo donó para poder llevar a cabo este estudio, a continuación se da una breve descripción de la forma de prepararse.

A partir de suero hiperinmune contra parvovirus canino tipo 2, se elaboró la purificación de las globulinas por medio de tres precipitaciones con sulfato de amonio en el siguiente orden 50%, 40% y 30%.

Posteriormente se diluyó la cantidad previamente calculada de ITCF (2.15 mg) en un litro de solución buffer de fosfatos.

La cantidad obtenida de las precipitaciones se colocan dentro de una membrana de diálisis y se tiñe por inmersión, proceso que dura cinco días manteniéndose a cuatro grados centígrados en reposo. Posteriormente se elimina el exceso de ITCF, se envasa y se liofiliza. El volumen de restitución es de 6 ml con solución buffer o agua destilada.

La dilución que el autor sugiere es de 1:8 (54).

B) METODOS

La recolección de las muestras se realizó dentro de las primeras cuarenta y ocho horas del curso, teniendo precaución de no muestrear perros que tengan por lo menos siete días de haber recibido la aplicación de la vacuna contra el parvovirus.

Se recolectaron 26 muestras de heces fecales de perros con signos sugestivos a la parvovirosis canina, como son vómito, diarrea, fiebre, anorexia, depresión, dolor abdominal y deshidratación entre otros; además de cuatro vacunas comerciales de Parvovirus canino tipo 2 como controles positivos y vacunas comerciales de rabia, triple canina (DA2-L), agua destilada y solución PBS como controles negativos. Cada muestra se etiquetó con el fin de llevar un control hasta el final del experimento.

Los resultados se evaluaron porcentualmente.

La prueba de aglutinación látex se corrió inmediatamente después de recolección y se las muestras se conservaron en refrigeración para la prueba de inmunofluorescencia.

Prueba de aglutinación látex

En un tubo de ensayo se mezcla cuidadosamente la mezcla de heces con cuatro gotas de la solución amortiguadora con un hisopo, se deja reposar por dos minutos para que las partículas grandes se sedimenten. Con una pipeta, se agrega una gota de la muestra diluida

en el punto azul del círculo control de la tarjeta y otra en el punto azul del círculo test, dejando caer las gotas libremente; en seguida con la parte plana de la pipeta se mezcla primero el círculo control y posteriormente el círculo test, teniendo precaución de no volverla a poner en contacto con el círculo control. Finalmente la tarjeta con los reactivos, se mueve con movimientos circulares suaves durante dos minutos sin que estos salgan de sus respectivos círculos.

Prueba de inmunofluorescencia directa

Una vez reunidas las muestras en su totalidad se elaboraron frotis de heces sospechosas, antígenos comerciales de parvovirus canino, agua destilada, solución buffer y antígenos diferentes a parvovirus.

Todas las muestras fueron fijadas en acetona absoluta a 4 grados centígrados durante veinticuatro horas y posteriormente fueron lavadas en agua destilada por inmersión.

El conjugado fluorescente experimental liofilizado se restituyó en el volumen indicado de 6 ml con solución PBS.

Se aplicó una gota del conjugado fluorescente en cada muestra, y se incubó en una cámara húmeda a 37 grados centígrados durante treinta minutos, después se eliminó el exceso del conjugado fluorescente, por inmersión simple en agua destilada; las muestras fueron secadas al aire libre y posteriormente se cubrieron de la luz con el papel estaño.

Las muestras fueron observadas en el microscopio de luz ultravioleta, sin embargo los primeros resultados obtenidos fueron sumamente confusos, ya que presentaron fluorescencia inespecífica a pesar de que las heces fueron disueltas en PBS y se dejaron reposar durante diez minutos, antes de tomar el sobrenadante. Las heces siguieron presentando una gran cantidad de material extraño, entre los que se encontraban fibras vegetales y animales, bacterias, levaduras y hongos, entre otras. Por lo tanto se decidió repetir la prueba, pero esta vez se amplió el tiempo de lavado.

Las muestras 1, 2, 3 y 4 son diferentes antígenos comerciales que sirvieron como muestras positivas, y las muestras 5, 6, 7 y 8 se utilizaron como muestras negativas las cuales son agua destilada, solución buffer, vacuna triple canina y vacuna antirrábica canina respectivamente.

RESULTADOS

Criterio de inclusión. Para que un resultado sea interpretado como positivo es necesario tratar de localizar células teñidas.

Para obtener un parámetro de referencia entre ambas pruebas se utilizaron ocho muestras conocidas, las cuales estaban representadas de la siguiente manera:

Cuatro muestras con el Parvovirus canino activo modificado tipo 2, una muestra con el virus del Distemper canino, el Adenovirus canino tipo 2 y la bacterina de *Leptospira* serotipos canicola e icterohaemorrhagiae, una muestra con virus de la rabia inactivo, una muestra de agua destilada y por último una muestra de solución PBS. Las cuatro primeras servirían como referencia para los resultados positivos y las restantes para los resultados negativos.

Los resultados que se obtuvieron de las muestras conocidas con la prueba de aglutinación látex correspondieron adecuadamente al resultado conocido, pero con la prueba de inmunofluorescencia directa dilución 1:8 no correspondieron de la misma manera, ya que solo el 50% correspondió del total de estas muestras, por lo que fue necesario diluir el conjugado a 1:16 dando como resultado que solo el 62.5% correspondió (Tabla 1). Observe que en la tabla 1 el 100% de los resultados positivos corresponden para ambas pruebas, pero no así para los negativos ya que para la dilución 1:8 ningún resultado corresponde y para la dilución 1:16 solamente el 25%. Por lo tanto se tuvo que realizar una tercera dilución a 1:32, obteniendo con esta última un desempeño adecuado al compararla con la prueba de aglutinación látex (tabla 2).

Tabla 1. Resultados de las muestras conocidas por la prueba de aglutinación látex contra la inmunofluorescencia directa con diluciones de 1:8 y 1: 16.

MUESTRA	AGLUTINACION LATEX	IFD 1:8	IFD 1: 16
1	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
2	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
3	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
4	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
5	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO
6	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO
7	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO
8	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO

Tabla 2. Comparación de las muestras conocidas entre la aglutinación látex e inmunofluorescencia directa con dilución 1: 32.

MUESTRA	AGLUTINACION LATEX	INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA 1:32
1	POSITIVO	POSITIVO
2	POSITIVO	POSITIVO
3	POSITIVO	POSITIVO
4	POSITIVO	POSITIVO
5	NEGATIVO	NEGATIVO
6	NEGATIVO	NEGATIVO
7	NEGATIVO	NEGATIVO
8	NEGATIVO	NEGATIVO

Los resultados que correspondieron con esta ultima dilución para ambas pruebas son del 50 % tanto para los positivos, como para los negativos, los cuales corresponden a el resultado esperado.

Una vez determinada cual era la dilución indicada para poder realizar una comparación entre ambas pruebas se corrieron las muestras obtenidas de perros enfermos.

Tabla 3 HOJA DE CONCENTRACION DE DATOS. Resultados de las heces de perros muestreadas con la prueba de aglutinación látex e inmunofluorescencia directa.

MUESTRA	AGLUTINACION LATEX	INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA 1:32
1	NEGATIVO	POSITIVO
2	POSITIVO	POSITIVO
3	NEGATIVO	POSITIVO
4	NEGATIVO	NEGATIVO
5	NEGATIVO	NEGATIVO
6	NEGATIVO	POSITIVO
7	POSITIVO	POSITIVO
8	NEGATIVO	NEGATIVO
9	NEGATIVO	POSITIVO
10	POSITIVO	POSITIVO
11	POSITIVO	POSITIVO
12	POSITIVO	POSITIVO
13	NEGATIVO	NEGATIVO
14	POSITIVO	POSITIVO
15	POSITIVO	POSITIVO
16	POSITIVO	POSITIVO
17	NEGATIVO	NEGATIVO
18	POSITIVO	POSITIVO
19	POSITIVO	POSITIVO
20	NEGATIVO	NEGATIVO
21	NEGATIVO	NEGATIVO
22	NEGATIVO	NEGATIVO
23	POSITIVO	POSITIVO
24	NEGATIVO	NEGATIVO
25	POSITIVO	POSITIVO
26	POSITIVO	POSITIVO

Una vez obtenidos los resultados se observo que en las muestras procesadas por aglutinación látex fueron 13 las positivas y 13 las negativas, lo que corresponde al 50 % para cada una de ellas, y los resultados por la prueba de inmunofluorescencia directa fueron 17 positivas y 9 negativas, que equivale al 65.38 % y 34.62 % respectivamente.

De las muestras que resultaron positivas con la prueba aglutinación látex, el 100 % de ellas tuvieron el mismo resultado con la prueba de inmunofluorescencia directa, y de las que resultaron negativas solamente el 69.23 % correspondió y el 30.77 % dieron resultados diferentes.

Discusión.

El diagnóstico temprano de la enteritis parvoviral canina es muy importante, ya que produce un grave desbalance en el equilibrio hídrico y electrolítico de los animales afectados, el cual puede ser fatal.

Como se la observa prueba de aglutinación látex de tarjeta (AL) es una herramienta de gran valor diagnóstico, tanto por su seguridad y su sencillez (8). Esta prueba está realizada con anticuerpos monoclonales que la hacen muy específica para el diagnóstico de la parvovirus del perro, gato, visón, mapaches y zorras (57). En este trabajo en el 100 % de resultados de la misma se comprobó la sencillez y sensibilidad, lo cual la hace atractiva para el clínico de pequeñas especies.

La inmunofluorescencia directa se ha utilizado para diagnosticar la parvovirus, pero su sensibilidad no ha mostrado ser lo suficientemente específica como para considerar a esta como una prueba altamente confiable, incluso la inmunofluorescencia indirecta tiene un mejor desempeño y a su vez la prueba de hemoaglutinación-inhibición de la hemoaglutinación (HA-IHA) supera a las dos primeras (45). Otros autores, entre los que se encuentran Senda (1987), Rivera (1987), Dohse (1988) y Zajac (1988) han demostrado en sus trabajos que la sensibilidad de la prueba de inmunofluorescencia para el diagnóstico de la parvovirus no es muy eficiente en muestras de órganos, sueros, heces e incluso de cultivos celulares.

En el caso particular de la prueba de inmunofluorescencia directa el diagnóstico se complica aún más, ya que es aconsejable la búsqueda de células infectadas, por lo que se recomienda conservar la muestra en congelación para evitar que el metabolismo enzimático destruya la célula.

En el trabajo realizado por Trujillo (1990) reporta cúmulos virales (fig. 1 y 2), por lo que se piensa que se trata de fluorescencia inespecífica, obteniéndose por consecuencia resultados falsos positivos. También señaló que la dilución de elección en su trabajo fue 1:8, lo cual difirió en el presente trabajo, ya que en los resultados de la prueba de inmunofluorescencia tanto de las muestras conocidas como las aleatorias presentaron una cantidad muy importante de fluorescencia inespecífica aún y para las que sirvieron de muestras negativas.

Por otra parte el tiempo y la simplicidad de las pruebas es muy importante, ya que la AL se realiza en un tiempo no mayor a cinco minutos, pudiéndose realizar en el mismo lugar en donde se recolecta la muestra; y sin embargo la prueba IFD se requiere enviar a un laboratorio con personal especializado, teniendo que esperar por lo menos varias horas para obtener el resultado.

El objetivo inicial de marcar una pauta de confiabilidad entre la prueba de aglutinación látex y la de inmunofluorescencia directa, mostró superioridad en la primera, debido a la limitación que presentó el conjugado experimental, ya que no tuvo un comportamiento adecuado en el caso de las muestras negativas a AL en las muestras de control negativo (Tabla 1), y a pesar de que tuvo un mejor desempeño en las muestras positivas, presentó dificultades. ya que el encontrar células teñidas en las primeras diluciones se complica por la fluorescencia inespecífica.

Los resultados en la prueba de aglutinación látex fueron más homogéneos y de más fácil interpretación. En cuestión de facilidad la prueba de aglutinación látex superó ampliamente al conjugado fluorescente experimental, ya que es muy rápida, y cuando se está familiarizado con esta técnica es muy sencilla. El único problema que presentó fue que cuando las heces no son muy líquidas es difícil homogeneizar la muestra en la solución buffer recomendada por el laboratorio que es de cuatro gotas, obteniéndose una solución fecal muy espesa, lo cual hace el diagnóstico confuso, por lo que se recomienda diluir la muestra 1:10 con PBS para separar las partículas virales (26).

Figura 1. Impronta de heces de perro en donde se aprecia al parvovirus canino teñido con el conjugado fluorescente experimental, observese como se aprecia una gran cantidad de conjugado libre (Objetivo plan neofular 16/0.50 inmersión).

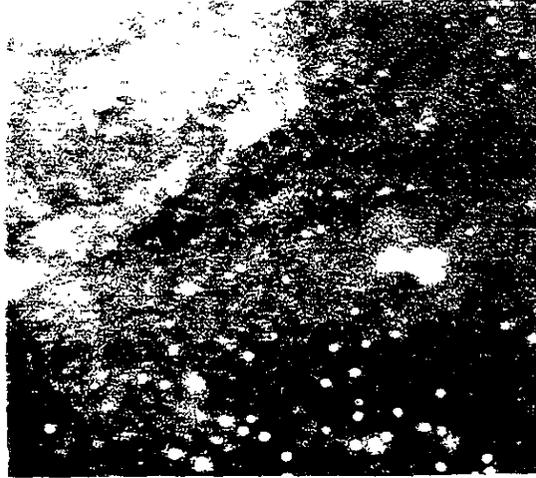
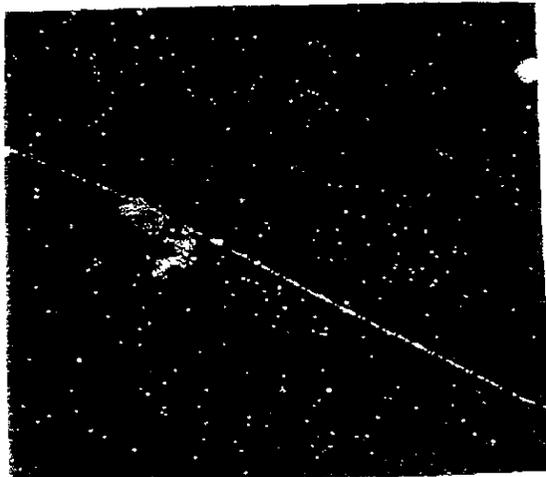


Figura 2. Frotis de heces de perro teñidas con isotiocianato de fluoresceína, prueba de inmunofluorescencia positiva (Excitación por luz ultravioleta, con filtro ocular rojo).



Conclusiones

Si se realiza una comparación entre ambas pruebas se puede observar que la prueba AL presenta varias ventajas en relación con la prueba IFD, tanto por su sencillez como por su confiabilidad.

Dentro de los resultados obtenidos podemos observar que con la prueba de inmunofluorescencia directa se obtuvo un alto porcentaje de resultados falsos positivos, a pesar de trabajar con la dilución 1:32, la cual fue elegida como la mejor, obteniendo solamente el 65.38 % de eficacia contra el 100 % por la aglutinación látex en las muestras negativas, por lo que se concluye que la técnica de inmunofluorescencia directa, no resultó ventajosa con respecto a la prueba de aglutinación látex para el diagnóstico de Parvovirus canina.

Es importante hacer mención que solo el 50 % de perros muestreados resultó positivo al Parvovirus canino, por lo que siempre debe recomendarse el apoyo con técnicas de laboratorio para determinar la etiología de la enfermedad, y así poder brindar el mejor servicio a nuestros clientes.

ANEXO

PARVOVIROSIS CANINA

Historia de la enfermedad.

En 1970 se reportó el aislamiento de un virus del género Parvovirus en perros clínicamente sanos, al cual le denominaron "el virus diminuto de los perros" (CPV-1); posteriormente, basándose en estudios serológicos, se estimó la difusión del virus en los Estados Unidos comprobando la presencia del virus en el territorio norteamericano, aunque sin reconocer su patogenicidad (16, 54). El virus aislado por Binn y Cols. fue un coronavirus canino, el cual se aisló a partir de perros enfermos sospechosos de una gastroenteritis viral en Alemania. En 1977 Eugster y Nairn observaron al parvovirus en heces diarreicas de cachorros enfermos, los cuales se recuperaron en forma espontánea en un período entre los cinco y diez días después de los primeros signos de la enfermedad, recibiendo poca atención por parte de los investigadores y científicos (24).

En agosto de 1978 se observaron dos nuevas enfermedades en perros, las cuales aparecieron en forma simultánea (11, 16, 54). La primera se trataba de una enfermedad que producía problemas gastrointestinales, sospechándose de un problema por coronavirus tal como lo describió Charmichael en febrero del mismo año.

Posteriormente se comprobó por microscopia electrónica que se trataba de un virus del género Parvovirus (39, 54). Kelly y Atwell describieron el mismo año una enteritis infecciosa en perros similar al parvovirus felino , haciendo referencia al cuadro clínico y a la patología intestinal observada, comprobando también que el agente etiológico era un parvovirus.

La segunda enfermedad se presentó en cachorros muy jóvenes, dicha enfermedad se caracterizaba por tener un curso sobre agudo por lo que se le llamó Síndrome de Muerte Súbita, encontrándose a la necropsia de esos animales una miocarditis y necrosis del miocardio multifocal. En 1979 se observaron cuerpos de inclusión intranucleares en las células de miocardio, lo cual sugería una etiología viral; posteriormente el mismo año estudios ultraestructurales revelaron partículas similares en tamaño y simetría al parvovirus. Posteriormente Robinson aisló un parvovirus del miocardio de los cachorros muertos por el síndrome de muerte súbita, demostrando que se trataba de una misma enfermedad (11).

La mayoría de animales muertos con problemas gastrointestinales eran cachorros entre las ocho y las dieciséis semanas de edad, aunque también se veían animales adultos afectados (24); en tanto que los animales afectados por el síndrome de muerte súbita eran cachorros recién destetados que no pasaban de las doce semanas de edad (39, 60).

En Grecia se reportó la enfermedad en 1974 y el primer aislamiento fue en Australia a partir de una muestra de intestino y posteriormente en diferentes partes del mundo pudo ser aislado el virus. En general a partir de 1978 fueron reportados múltiples brotes de gastroenteritis hemorrágicas y miocarditis causadas por parvovirus. Los primeros reportes fueron en Australia, Estados Unidos, Canadá, Sudáfrica, Nueva Zelanda y Europa (11).

La enfermedad se caracterizó por generar una mortalidad elevada, por lo que varios investigadores comenzaron a mostrar un gran interés. El agente causal es una nueva especie viral del género parvovirus, a pesar de que el virus no había sido clasificado en forma oficial por el Comité Internacional para la Nomenclatura de Virus se le llamó Parvovirus Canino tipo 2 (CPV-2) (39).

La primera evidencia serológica fue reportada en New South Wales, Australia en 1979 por la técnica de hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación (HA-IHA). El parvovirus canino (CPV) tiene una estrecha y recíproca relación antigénica con el parvovirus felino y el parvovirus que causa la enteritis del visón (11, 12, 39).

En la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Autónoma de México en el mes de junio de 1980 se empezaron a recibir cadáveres de perros menores de un año de edad en su mayoría, los cuales habían muerto con un cuadro gastroentérico agudo. El departamento de Patología reportó lesiones gastroentéricas similares a las de panleucopenia felina frecuentemente, por lo cual se elaboraron múltiples trabajos, los cuales orientaron a saber que el virus de la parvovirus canina se había introducido al país (47). Los primeros Estados de la República en reportar la enfermedad fueron México, Puebla, Hidalgo, Jalisco, Nuevo León, Morelos, Veracruz y el Distrito Federal (54).

Sinonimias y características de los parvovirus.

La parvovirus canina es también conocida como enteritis viral canina o gastroenteritis hemorrágica viral, es producida por un virus de la familia Parvoviridae del género Parvovirus.

Existen varios géneros entre los cuales se encuentra el parvovirus canino, son virus DNA caracterizados por ser muy pequeños y resistentes tanto a los cambios físicos como químicos, esto los hace altamente resistentes al medio.

En condiciones de laboratorio no se ven afectados a una temperatura de 60 grados centígrados por lapsos de 60 minutos; además resisten la desecación hasta seis meses y el congelamiento durante varios años. También resisten una gran cantidad de reactivos entre los que se encuentran el éter, el cloroformo y los detergentes aniónicos. El virus es sensible al hipoclorito de sodio al 5%

(11, 12, 50) .

En un estudio realizado para caracterizar al virus diminuto de los perros se comparó con el parvovirus canino tipo 2, mostrando que difieren en sus órdenes de hospedadores y espectro de hemoaglutinación, fueron también encontrados distintos en sus propiedades antigénicas y genómicas (27). A su vez se han comparado las propiedades antigénicas y genómicas del CPV-2 con los parvovirus relativos al felino, visón y mapache, mostrando diferencias en la secuencia de las proteínas en la capsida del epítipo (34); además se ha demostrado su patogenicidad para otras especies (37).

Hospedadores

El parvovirus canino tiene varios hospedadores diferentes, entre los que se encuentran los perros, los lobos, las zorras y el visón (13). También se ha visto la enfermedad en otras especies como el lobino o perro del matorral (Speothos vanaticus), en el aguará o lobo de crin (Chrysocyon brachyurus), en el chacal cangrejero o bien llamado perro y zorro cangrejero (Cerdocyon thous) y en el coyote (Canis latrans). En el mapache se aisló un parvovirus estrechamente relacionado con el parvovirus canino (18).

El orden del mecanismo del virus para la selección del hospedador es desconocido, pero en infecciones por estos virus debe considerarse el diagnóstico diferencial en animales salvajes de las enfermedades intestinales. Existen dos reportes de cánidos infectados por el virus de la panleucopenia felina, el primero en un zorro azul del ártico, y el segundo en un aguará (10, 18).

El parvovirus canino (CPV-2) aglutina hematíes de cerdo a cuatro grados centígrados, y es serológicamente distinto al virus diminuto de los perros (CPV-1). Existe una gran afinidad del virus por las células en mitosis, por lo que los viriones se congregan en estas células hospedadoras en particular, por lo que los efectos en éstas son letales (31).

Características de la enfermedad

Es una virosis altamente contagiosa de elevada morbilidad y mortalidad, la cual afecta a cánidos susceptibles de cualquier edad, aunque principalmente a cachorros jóvenes. La enfermedad puede tener dos formas de presentación, la gastrointestinal y la cardiovascular. La primera se ve con mayor frecuencia en cachorros de menos de cuatro meses a diferencia de la segunda que se presenta en cachorros de menos de ocho semanas de edad.

Algunas razas parecen tener un mayor riesgo de desarrollar un cuadro severo, en especial la Doberman, Rottweiler, Springer Spaniel y Bull Terrier (11). En México el mayor número de casos se presentan cuando se realizan exposiciones de perros.

Patogenia

La vía de entrada para el virus es la oral, llegando al tejido linfoide como la orofaringe (tonsilas) y los ganglios linfáticos cervicales donde comienza la replicación.

Alrededor del tercer y quinto día se presenta la viremia, alojándose en células de gran actividad mitótica como las criptas de Lieberkuhn, por lo que hace que la mucosa intestinal sea un sitio favorito para la infección y replicación (30); además de sitios como el tejido linfoide del timo, bazo, ganglios linfáticos y médula ósea, así como en células del miocardio, pulmón y parénquima hepático (12); de tal suerte que trastorna el mecanismo homeostático de la circulación, pudiendo producir hemorragias en capilares por efectos indirectos (50).

El parvovirus felino cuando afecta a hembras gestantes puede trasladarse en las células rojas pasando a través de las células del endotelio y la barrera placentaria, estableciendo la infección en el feto ó en el recién nacido, tanto en la rata como en el gato. El virus también posee afinidad por el epitelio germinal del cerebelo en el feto en desarrollo (50), los fetos que mueren presentan hipoplasia cerebelar e incluso necrosis cortical y atrofia (16).

La principal vía de excreción del virus son las heces de los animales enfermos, alcanzando títulos muy elevados.

En la forma gastrointestinal la muerte se da por deshidratación, hipoglucemia, sepsis ó choque neurogénico, en tanto que en la forma cardiaca la muerte es por falla cardiaca congestiva, produciendo mortalidad en el 70 % de los casos y tal vez el otro 30 % quede con daño cardiaco subclínico.

Se ha demostrado que el parvovirus canino no produce inmunosupresión, ya que el único efecto potencial notado fue el desarrollo de leucopenia periférica transitoria, por lo que ésta no representa un papel significativo en la patogénesis de la enfermedad (38). A pesar de esto no es raro encontrar infecciones mixtas, por ejemplo la infección por coronavirus potencializa a la infección por parvovirus, volviendo a este complejo altamente virulento, por lo que se concluye que la replicación en criptas intestinales durante la fase de recuperación primaria por coronavirus, proporciona un buen sitio para la replicación del parvovirus (3, 11, 14); otras enfermedades que pueden exacerbar al parvovirus canino, son la gardiasis y la anquilostomiasis (11).

En un estudio realizado por Turk y Cols. en el período de 1987 a 1988, en un 90 % de perros positivos a parvovirus, Escherichia coli fue identificada, además de enfermedad pulmonar asociada al parvovirus en un 63 % de los casos. También otros autores entre ellos Isogai y Cols. han descrito a Escherichia coli asociada a endotoxemia en perros con la infección de parvovirus.

Semiología

Forma gastrointestinal

Se pueden presentar signos clínicos muy severos como vómito reflejo sin asociación a la ingestión de alimento, diarrea que puede ser de catarral a hemorrágica; y entre ambos producir una deshidratación muy acentuada en las primeras 48 horas del curso. A nivel de campo se ha visto que el período de incubación es de siete a catorce días y el curso de dos a cinco días para que el paciente muera o comience a recuperarse. Otros signos asociados son anorexia, depresión, fiebre de hasta 41 grados centígrados, mucosas pálidas, retorno venoso lento, dolor abdominal, ganglios linfáticos aumentados de tamaño, polipnea por el dolor abdominal (tendiendo a mantener los miembros pélvicos en una posición más alta que los torácicos (17)). Una observación importante es el olor sui generis de la diarrea, debido a la esteatorrea que se produce por la falta de absorción como consecuencia de la destrucción de la mucosa intestinal (58), así como el hierro presente en las heces sanguinolentas.

Se ha comprobado que la inmunidad pasiva ya sea por sueros hiperinmunes o por anticuerpos maternos, pueden retardar el arranque de los signos clínicos, la seroconversión y la excreción fecal, además de producir una declinación más rápida de anticuerpos séricos posteriormente a la inoculación, posiblemente por el secuestro de los virus en los tejidos linfoides.

Forma cardiovascular

Puede ocurrir muerte súbita en los cachorros afectados o bien existir signos como disnea, polipnea, languidez, cianosis, suspiros, el animal llora y muestra una actitud de xifosis, y a la auscultación se puede encontrar edema pulmonar y arritmias cardíacas; puede presentarse semiología gastrointestinal también.

Patología

Forma gastrointestinal

A los animales que se les realiza la necropsia que mueren por parvovirus se les describe la capa sucia, áspera y sin brillo, como consecuencia de la deshidratación y de la desnutrición; trazas de vómito en esófago y boca, al igual que trazas de diarrea en la región perianal. Las mucosas se ven pálidas y los ojos hundidos. Al revisar el estómago, éste se encuentra vacío, el yeyuno y el ileon presentan una enteritis que puede ir desde catarral hasta hemorrágica y/o necrótica. Los ganglios linfáticos mesentéricos pueden verse aumentados de tamaño y edematosos; puede desarrollarse intususcepción.

En cortes histopatológicos de intestino se ve una gran cantidad de leucocitos, enteritis necrosante de papilas y frecuentemente con dilatación y colapso de criptas y atrofia de las vellosidades, pudiendo observar zonas de regeneración del epitelio; puede llegar a haber cuerpos de inclusión intranucleares. Además se observan petequias, equimosis o sufusiones en la serosa del intestino; la submucosa se aprecia congestionada y los ganglios presentan edematización y

hemorragia (12, 55). Se ha reportado hiperplasia de los nódulos linfoides intestinales (41), depresión de tejidos linfoides y de células nucleadas en la médula ósea (55).

En un estudio realizado por microscopía electrónica, en el grupo de animales sanos designado como grupo control se reportaron vellosidades altas en forma de dedo, un gran número de estrías irregulares trazadas en forma circunferencial y transversales; y a mayor amplificación se observaron células epiteliales simples y depresiones. En animales inoculados los primeros cambios se observan a partir del sexto día, como son la mucosa del intestino delgado cubierta por una gruesa capa de moco, la vellosidad fue detenida en su crecimiento perdiendo su aspecto superficial, y en algunos casos hubo pérdida del epitelio luminal exponiendo la lámina propia. A los siete días se observó dilatación de la cuenca circunvillar y de las entradas de las criptas, persistiendo el moco. La vellosidad pudo ser diferenciada siendo corta y puntiaguda, con estrías transversales en la superficie hubo algo de hipertrofia de las canaladuras de las intervallosidades (25).

Forma cardíaca

Se observa fluido espumoso en tráquea y bronquios, congestión hepática, edema pulmonar y dilatación del ventrículo izquierdo del corazón. El endocardio y el atrium presentan estrías blanquecinas que microscópicamente se ve como necrosis multifocal, dilatación y consolidación. Existe infiltración por mononucleares y cuerpos de inclusión en la miofibras. Animales que sobrevivieron al proceso agudo de la enfermedad y murieron posteriormente pueden presentar una lesión consolidativa del miocardio, al igual que hipertensión pulmonar crónica, linfadenopatía de ganglios torácicos y abdominales. Se ha reportado hidropericardio y edema intersticial del miocardio (40). Otras lesiones vistas en la forma mixta son enteritis catarral y miocarditis purulenta. En animales jóvenes se presenta una hepatitis (31).

Diagnóstico

Se puede dirigir la diagnosis a parvovirus siguiendo la historia clínica, el cuadro clínico y la forma de comportamiento de la enfermedad. Se pueden realizar estudios de laboratorio básicos como un examen coproparasitoscópico, biometría hemática, un perfil bioquímico y un uroanálisis; para comenzar a diferenciar la enfermedad. Los resultados de laboratorio que pueden orientar hacia un diagnóstico de parvovirus, son leucopenia transitoria de 2000 (incluso se han reportado de 100 a 500/mm cúbico), neutrofilia (en una ocasión se reportó un caso de neutropenia, junto con la disminución del número total de células nucleadas así como en el número de células eritroides y mieloides (55)), panleucopenia, linfopenia, hipoglucemia (12). Cuando se sospecha de la parvovirus en su forma cardiaca y se toma una radiografía puede llegar a observarse hipertensión pulmonar, dilatación del ventrículo izquierdo y si se complementa el estudio con el electrocardiograma, la evaluación es anormal (17).

Actualmente se puede contar con una gran variedad de pruebas inmunológicas o citológicas para la identificación de la parvovirus canina, entre las que se encuentran el aislamiento, el inmunoensayo, la inmunofluorescencia, ELISA, hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación (HA - IHA), y la aglutinación látex, entre otras (2, 16, 24, 32, 41, 44, 48, 53, 54).

El virus a pesar de tener la característica de ser hemoaglutinante, por lo cual la prueba de hemoaglutinación resulta satisfactoria en el diagnóstico, debe de complementarse con la prueba de inhibición de

la hemoaglutinación para tener un resultado serológico más específico, además de que se han observado líneas que después de varios pases pierden su capacidad hemoaglutinante (35).

Es importante considerar el estímulo inmunológico, ya que el título de anticuerpos puede diferir según las condiciones del alojamiento puesto que la producción de anticuerpos es estimulada, a su vez por la cantidad de virus y por exposición repetida que amplifica el número de anticuerpos. El parvovirus ha demostrado tendencia a la creación de anticuerpos IgM (antigenicidad similar a los líposacáridos), en comparación con la producción de anticuerpos IgG por el método de inhibición de la aglutinación (20).

En estudios realizados la prueba de ELISA ha demostrado ser igual de eficiente a títulos iguales o mayores a 1:80 para la inhibición de la hemoaglutinación, pero a títulos entre 1:20 y 1:40 el resultado ha sido variable, y para títulos menores de 1:20 han resultado negativos a ELISA (29). La prueba de ELISA es muy específica en contra del parvovirus canino, pero no es muy sensible a menos que el título de anticuerpos contra parvovirus canino sea mayor a 8192 por la técnica de la inhibición de la aglutinación (49).

La prueba de ELISA se ha podido montar en una tira reactiva para su uso comercial, la cual está hecha con anticuerpos monoclonales. A pesar de los rápidos cambios del genoma los resultados por esta prueba no se ven alterados (5).

El aislamiento viral se realiza por medio de cultivos celulares para su crecimiento. El parvovirus canino crece en un amplio margen de cultivos celulares incluyendo células de felino, canino, bovino, mono, mapache y visón. En estas células produce cuerpos de inclusión intranucleares basófilos, que pueden aparecer tanto al principio como hasta las 36 horas después de la inoculación con material clínico contaminado, como las heces por ejemplo (16). El virus se ha aislado o se han encontrado anticuerpos en una gran variedad de órganos como son el duodeno, yeyuno, ileon, tonsilas palatinas, nódulos linfáticos mesentéricos, bazo, timo, hígado, médula ósea, estómago, ciego, colon, recto, nódulos linfoides y poplíteos, pulmón, esófago, lengua, riñón, testículo, ovario, cerebro, corteza adrenal y sistema cardiovascular. Esto sugiere que el virus pueda resultar en infertilidad, disminución de la motilidad intestinal y trastornos neurológicos, o bien persistir en estas células (13).

Por medio de la microscopía electrónica de transmisión se identifico un virus similar al parvovirus en Grecia (60).

La detección del parvovirus en cultivo celular es más sensible que la inmunofluorescencia indirecta y ésta es a su vez más sensible a la detección de cuerpos de inclusión intranucleares por la tinción de May Grūwald-Giemsa. Las células madres de origen fresco fueron más sensibles que las células cultivadas, además de ser más sensibles cuando la concentración de células madres es más baja (45).

Los anticuerpos monoclonales también han sido ampliamente estudiados en los últimos años, debido a los diferentes epítomos que se han observado (23).

Otro punto importante, es que se han muestreado perros que se presentan al consultorio por causas ajenas a un cuadro por parvovirus y solamente un porcentaje cercano al cinco por ciento resultó negativo por la prueba de inhibición de la hemoaglutinación en un lugar endémico (7).

Pronóstico de la parvovirus

El microscopio nos puede ayudar a dar el pronóstico, los perros que presentan una insignificante baja en el conteo de leucocitos totales, incluyendo neutrófilos y eosinófilos en el conteo diferencial, es más probable que sobrevivan, en comparación con los que tienen un descenso más importante en el conteo de linfocitos y monocitos. El ascenso en el conteo de linfocitos y monocitos durante el curso, es un pronóstico favorable en comparación con los que no lo presentan (11, 19). Cuando se manifiestan estornudos es un mal pronóstico. Se han presentado algunos perros recuperados de parvovirus con diabetes inmunomediada después de dos años.

Tratamiento

La terapia de infusión incluye soluciones con electrolitos, los valores séricos de potasio menores a 3.0 mEq/litro, piden una suplementación en la terapia, especialmente en la acidosis (la velocidad no debe exceder de 0.5 mEq/kg/hora); el uso de antieméticos, antibióticos, antiespasmódicos y analgésicos es discutido. La terapia inmune y el uso de antisueros enterotóxicos es favorable, así como restaurar la dieta (43).

Cuando existe sangrado gástrico es recomendable inhibir la secreción de iones hidrógeno. Los medicamentos que comúnmente se usan para esto son la cimetidina, la ranitidina, famotidina, nizatidina, omeprazole. También se emplean drogas citoprotectoras como el sucralfato, prostaglandinas sintéticas, iones de aluminio y subsales de bismuto para prevenir el daño a la mucosa gástrica y duodenal, además favorecen la cicatrización de la misma cuando esta dañada.

Prevención y Control

Actualmente existen en el mercado una gran cantidad de laboratorios que producen vacunas contra el parvovirus canino, las cuales pueden ser de virus activo modificado o de virus inactivado, en general se prefieren virus activos y homólogos en presentación liofilizada.

Los calendarios de vacunación son sumamente variables, pudiendo comenzar desde las seis o siete semanas de edad (4, 42, 62), y se recomienda la revacunación en una o hasta en cuatro ocasiones, con un intervalo que varía desde una semana (42) o hasta cuatro semanas. El período óptimo para la inmunización de cachorros, después de la desaparición de la inmunidad materna es discutida hasta la fecha. Se tienen en existencia en el mercado vacunas monovalentes y polivalentes, las cuales generalmente van combinadas con virus del moquillo canino. Estas han dado resultados satisfactorios contra el desafío en algunas investigaciones (62), pero otros investigadores reportan lo contrario, asumiendolo a la posible inmunosupresión por el parvovirus, la cual va asociada a un síndrome de depresión tímica (9), a pesar de que experimentos recientes exponen que no hay evidencias de que el parvovirus canino produzca inmunosupresión (38). También se encuentran en México vacunas combinadas de parvovirus con el coronavirus canino. Una combinación de virus activos apareció en el mercado Estadounidense en 1938 pero rápidamente se retiró del mercado por sus reacciones adversas, incluyendo signos neurológicos y muerte principalmente. También se observó enfermedad generalizada, síndrome de pancreatitis, meningitis, retardo en el crecimiento o muerte súbita (39). Algunos microbiólogos e inmunólogos señalan que el coronavirus es incapaz de producir una respuesta inmune, por lo que la aplicación de la vacuna debe ser estudiada más a fondo para ver si su uso es justificado.

La vacuna puede dar una buena inmunidad durante tres o cuatro meses y si se revacuna se amplía hasta seis u ocho meses (22), por lo que se puede recomendar que a un cachorro menor de tres meses de edad se le apliquen tres vacunaciones en el primer año de vida y si al cachorro lo presentan sus propietarios después de los tres meses, se recomienda usar dos dosis durante su primer año de vida. En animales adultos la revacunación se recomienda anualmente.

En un animal recuperado que presenta altos títulos de anticuerpos por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación, se sabe que puede persistir un buen nivel de anticuerpos por lo menos durante un año y medio (21).

Existen factores que pueden influir en los títulos de anticuerpos, por lo que se recomienda estudiar el macroambiente, el microambiente y las características del animal a vacunar (15).

En zonas recientemente endémicas hay que tener cuidado con la inmunidad pasiva, ya que el posible secuestro de anticuerpos puede conducir a que la enfermedad de campo proliferare (28).

A pesar de que las vacunas contra parvovirus felino fueron autorizadas en alguna ocasión para su uso en perros, se han hecho estudios que han demostrado no tener buena capacidad de protección contra el parvovirus canino (51).

Es muy importante considerar un buen programa de higiene y de desinfección intensa, para que el virus no persista en las instalaciones, además de vacunar a animales expuestos a la enfermedad, los cuales presentarán anticuerpos a los ocho días postvacunación (4). Otros medios de control recomendados son el cese de apareamiento y el sacrificio de cachorros enfermos en lugares donde se lleve a cabo la reproducción (21).

Bibliografía

1. Afshar, A.: Canine Parvovirus Infections a review.
Vet. Bull. 51: 605-612 (1981).
2. Amos, W.M.G.: Basic immunology. 1ª ed. Acribia, España, 1986.
3. Appel, M.J.G.: Does canine coronavirus augment the effects of subsequent parvovirus infection.
Vet. Med. 83: 363-366 (1988).
4. Appel, M.J.G and Carmichael, L.E.: Can a commercial vaccine protect pups against a recent field isolate of parvovirus.
Vet. Med. 82: 1091-1093 (1987).
5. Bartkoski, M.J.Jr.; Curren, M.; Dees, C. and Stroh, S.L.: Canine parvovirus immunodiagnosis and vaccination procedures.
Comp. An. Prac. 2: 30-33 (1988).
6. Bergan, T. and Norris, J.R.: Parvovirus. Methods in microbiology, Vol. 12 MacMillan Publish Company, New York, 1978.
7. Böhme, K. and Ressel, L.: Serological studies of canine parvovirus infection in clinically healthy and diseased dogs in Berlín (German Democratic Republic).
Mon. Vet. 43: 503-506 (1988).
8. Bodeus, M.; Cambiaso C.; Surleraux, M. and Burtonboy, G.: A látex agglutination test for the detection of canine parvovirus and corresponding antibodies.
L. Virol. Med. 19: 1-12 (1988).

9. Brenner, J.; Trainin, Z.; Orgad, U. ; Perli S. ; Meiom, R. and Yacobson, B. : A thymic depletion syndrome associated with a combined attenuated distemper parvovirus vaccine in dogs.
Israel J. Vet. Med. 44: 151 (1988).
10. Burton, M. y Burton, R.: Enciclopedia de la vida animal. Bruguera, España, 1974.
11. Carmichael L.E: Seminario sobre enfermedades infecciosas de los perros. U.N.A.M. , FMVZ 4ª Jornada Médica, México, 1989. Depto. Med. Vet. Zoot. Peq. Esp. México (1989).
12. Correa, G.P.: Enfermedades virales de los animales domésticos. 4ª ed. U.N.A.M. E.N.E.P. Cuautitlán, México, 1982.
13. Dohse, K. and Rudolph, R. : Antigen localization in canine parvovirus type 2 infection by means of the avidin-biotin-complex method (ABC) and direct immunofluorescence.
J. Vet. Med. 35: 717-728 (1988).
14. Edsall, S. : Viral enteritis in Greyhound puppies.
Comp. An. Prac. 19: 16-21 (1989).
15. Ernest, S.; Montes, S. y Martin, R.: A retrospective epidemiological study of the risk factors associated with the occurrence of parvovirus infection in a canine hospital population.
Ar. Med. Vet. Chile 20: 38-43 (1988).
16. Ettinger, S.J.: Text of Veterinary Internal Medicine. Vol 1 second ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1983.
17. Fenner, W. R.: Quick reference to veterinary medicine. Primera ed. Limusa, México, 1989.

18. Fowler, M.E.: Zoo and Wild Animal Medicine. Second ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
19. Ghermai, A.K. and Kraft, W.: White blood picturew in dogs surviving of dying from parvovirus infection.
Tier. Prax. 15: 409-415 (1987).
20. Hara, M.; Ogata, M.; Fukuyama, M; Akimoto, K.; Tabuchi, K. and Shimizu, T.: Canine parvoviral (CPV) enteritis. 3. Serological survey in some natural clinical and subclinical cases and 2-mercapto ethanol (ME) susceptibility of HI antibody.
Bull. Azabu Univ. Vet. Med. 7: 43-50 (1986).
21. Hirasawa, T; Iwaki, S; Watanabe, K; Mikazuki, K; Makino, S.; and Hayashi, Y.: Outbreak of canine parvovirus infection and its elimination in a closed beagle dog colony.
J. Vet. Med., B 34: 598-606 (1987)
22. Ishikawa, Y.; Samejima, T.; Nomura, Y.; Motohashi, T. and Hara, M.: Studies on the development of an inactivated canine parvovirus vaccine.
Bull. Azabu Univ. Vet. Med. 7: 35-42 (1986).
23. Jönsson, L.; Magnusson, C.; Book, M. and Juntti, N.: Monoclonal antibodies applied in an immunoperoxidase method for detection of parvovirus in specimens of small intestine from dog and mink.
Act. Vet. Scandinavica 29: 263-264 (1988).
24. Kirk, R.W. Current veterinary therapy VII. 4^a ed. C.E.C.S.A, México, 1988.

25. Macartney, L.; McCandlish, I.A.P.; Thompson, H. and Cornwell, C.: Canine parvovirus enteritis 3. Scanning electron microscopical features of experimental infection.
Vet. Rec. 24: 533-537 (1984).
26. Macartney, L. , McCandlish, I.A.P.; Thompson, H.; and Cornwell, H.J.C.: Studies on canine parvovirus infection: preparation of challenge virus.
Res. Vet.Scie. 45: 170-173 (1988).
27. Macartney, L; Parrish, C.R.; Binn, L.N. and Carmichael, L.E: Characterization of minute virus of canines (MVC) and its pathogenicity for pups.
Cornell Vet. 78: 131-145 (1988).
28. Macartney, L.; Thompson, H.; McCandlish, I.A.P. and Cornwell, H.J.C.: Canine parvovirus: interaction between passive immunity and virulent challenge.
Vet.Rec. 122: 573-576 (1988).
29. Madic ´, J.; Zupancic, Z.; Ramadan, P.;Lugovic,B. and Ropic ´, D.: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting antibodies to canine parvovirus.
Vet.Arch. 57: 197-201 (1987).
30. Merchant, I.A. and Packer, R.A.: Bacteriología y Virología Veterinarias. 2ª ed. Acribia, España, 1969.
31. Mohanti, S.B. and Dutta, S.K.: Veterinary virology 3ª ed. Interamericana, México, 1988.
32. Morilla, B.A.: Inmunología veterinaria. 1ª ed. Diana, México, 1959.

33. Ohman, H.B., et al. : Viral infections in domestic animals as models for studies of viral immunology and pathogenesis.

J. Gen. Virol. 66: 1-25 (1986).

34. Parrish, C.R.; Aquadro, C.F. and Carmichael, L.E.: Canine host range and specific epitope map along with variant sequences in the capsid protein gene of canine parvovirus and related feline, mink and raccon parvoviruses.

Vir. 163: 293-301 (1988).

35. Parrish, C.R.; Burtonboy, G and Carmichael, L.E. : Characterization of a nonhemagglutinating mutant of canine parvovirus.

Vir. 163: 230-232 (1988).

36. Parrish, C.R.; Have, P.; Foreyt, W.J.; Evermann, J.F.; Senda, M. and Carmichael, L.E. : The global spread and replacement of canine parvovirus strain.

J. Gen. Vir. 69: 1111-1116 (1988).

37. Parrish, C.R.; Leathers, C.W.; Pearson, R. and Gorham, J.R.: Comparisons of feline panleukopenia virus, canine parvovirus, raccon parvovirus and mink enteritis virus and their pathogenicity for mink and ferrets.

Am. J. Vet. Res. 10: 1429-1435 (1987).

38. Phillips, T.R and Schultz, R.D.: Failure of vaccine or virulent strains of canine parvovirus to induce immunosuppressive effects on the immune system of the dog.

Vir. Immuno. 1: 135-144 (1987).

39. Pollock. R. V.H. y Parrish, C.R.: Parvovirus canino. U.N.A.M., F.M.V.Z. 4^a-Jornada Médica, México (1989).
40. Redondo, E.; Valenza, F.; Vázquez, A; Roncero, V. y Duran, E.: Histopathological study and analytical determinations on the enteric, myocardial and mixed forms of canine parvovirus. Rev. Med. Vet. 140: 29-36 (1989).
41. Rivera, E. and Karlsson, K.A.: A solid-phase Fluorescent Immunoassay for detecting Canine or Mink Enteritis Parvoviruses in Faecal Samples. Vet. Microbiol. 15: 1-9 (1987).
42. Saint-Gérand, A.L. and Wiedemann, C. :Immunization against canine parvovirus in contaminated Kennels with the live vaccine Canimed P. Prak. Tie. 68: 23-24. 27-29 (1987).
43. Schwendenwein, I.; Lechner, C. and Mitterhuber, C.: Parvovirus enteritis of the dog - a clinical study. Wie. Tie. Mon. 75: 180-185 (1988).
44. Senda, M.; Hirayama, N.; Itoh, C. and Yamamoto, H.: Canine Parvovirus: Strain Difference in Haemagglutination Activity and Antigenicity. J. gen. Virol. 69: 349-354 (1988).
45. Senda, M.; Ohishi, K.; Hiyarama, N. and Yamamoto, H.: Detection of parvovirus in cell culture. Rep. Nat. Vet. Ass. Lab. 24: 11-14 (1987).

46. Simarro, I. ; Caballero, C.; Martínez, J.; Marcotegui, M.A.; Castro, J.M. y Ruíz Gonzalvo, F.: Isolation, identification and physico-chemical characterization of canine parvovirus
Med. Vet. 4: 219-226 (1987).
47. Stephano, H.A.: Epizootia de Enteritis Viral en México. Posible infección por parvovirus.
Vet. Mex. 11: 141-147 (1980).
48. Stites, D.P.; Stubo, J.D. and Fudenberg, H.H.W.: Inmunología Básica y Clínica. 5ª ed. El Manual Moderno, México. 1985.
49. Tabor, A.E.; Patterson, R.M; Smith, J.R.; Suaryana, K.G. and Bergess, G.W.: Detection of antibody to canine parvovirus in dog sera by enzyme immunoassay.
Aust. Vet. J. 64: 220-221 (1987).
50. Thomas C.J.; Hunt, R.D.: Veterinary Pathology. Fifth ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1983.
51. Thompson, H.; McCandlish, I.A.P.; Cornwell, H.J.C.; Macartney, L.; Maxwell, M.S.; Weipers, A.F.; Wills, I.R.W.; Black, J.A.C. and Mackenzie, A.C.: Studies of parvovirus vaccination in the dog: the performance of live attenuated feline parvovirus vaccines.
Vet. Rec. 122: 378-385 (1988).
52. Tiwari, S.P. and Rao, K.N.P.: Management of acute haemorrhagic gastroenteritis in pedigree pups.
Ind. J. Vet. Med. 7: 127-128 (1987).
53. Tizard, I.: An introduction to veterinary immunology. 2ª ed. Interamericana, México. 1984.

54. Trujillo O.M.A. : Elaboración de un conjugado fluorescente experimental para el diagnóstico de Parvovirus Canina. Tesis de Licenciatura. Fac. de Est. Sup. Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Estado de México, México. 1990.

55. Uchida, E.; Ichijo, S.; Goto, H.; Nakajima, K. and Osame, S.: Clinical, hematological and pathological findings in specific pathogen-free cats and conventional cat experimentally infected with canine parvovirus.

Jap. J. Vet. Sci. 50: 597-604 (1988).

56. Urquiza, F.A.: Tratamiento de la Parvovirus canina: Estudio recapitulativo. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D. F., México 1988.

57. Veijalainen, P. M-L, et al.: Latex agglutination test for detecting feline panleukopenia virus, canine parvovirus and parvovirus of fur animals.

J. Clin. Microbiol. 23: 556-559 (1986).

58. Wistreich, G.A.; Lechtman, M.D.: Microbiology. Fourth ed. MacMillan publishing Company, New York, 1969.

59. Woods, C.B.; Pollock, R.V.H. and Carmichael, L. E.: Canine parvoviral Enteritis.

J. Ame. An. Hosp. Ass. 16: 171-179 (1980).

60. Xylouri, E. and Papadopoulou, H.: identification of a parvo-like virus in haemorrhagic gastroenteritis of dogs. A study with the transmission electron microscope.

Bull. Hell. Vet. Med. Soc. 38 :75-78 (1987)

61. Zajac, J.; Zuffa, T. and Sediva, L. : Use of the immunofluorescence to demonstrate canine parvovirus in tissue culture.

Vet. Med. 33: 337-346 (1988).

62. Zuffa, T.; Salaj, J. and Bouckova, I. : Testing the Camipar and Canvipar-D vaccines against canine parvovirus infection under field conditions.

Vet. 37 375-377 (1987).