

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

*Trabajo de titulación previo
a la obtención del título de
Médica Veterinaria Zootecnista*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“DIAGNÓSTICO DE PARVOVIROSIS EN CANINOS MACHOS Y
HEMBRAS MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA CUALITATIVA Y
CUANTITATIVA”**

AUTORA:

ELIANA ANABEL AGUILAR FIERRO

TUTOR:

DR. JUAN LEONARDO MASACHE MASACHE

CUENCA - ECUADOR

2019

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Eliana Anabel Aguilar Fierro con documento de identificación N° 0705160794, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación: **“DIAGNÓSTICO DE PARVOVIROSIS EN CANINOS MACHOS Y HEMBRAS MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA CUALITATIVA Y CUANTITATIVA”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Médica Veterinaria Zootecnista*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, julio de 2019



Eliana Anabel Aguilar Fierro

C.I. 0705160794

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“DIAGNÓSTICO DE PARVOVIROSIS EN CANINOS MACHOS Y HEMBRAS MEDIANTE LA TÉCNICA ELISA CUALITATIVA Y CUANTITATIVA”**, realizado por Eliana Anabel Aguilar Fierro, obteniendo el *Trabajo Experimental* que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, julio de 2019.

A handwritten signature in blue ink, written over a horizontal line. The signature is stylized and appears to read 'J. Masache'.

Dr. Juan Leonardo Masache Masache

C.I. 1103109003

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Eliana Anabel Aguilar Fierro con documento de identificación N° 0705160794, autora del trabajo de titulación: **“DIAGNÓSTICO DE PARVOVIROSIS EN CANINOS MACHOS Y HEMBRAS MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA CUALITATIVA Y CUANTITATIVA”**, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental* es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, julio de 2019



Eliana Anabel Aguilar Fierro

C.I. 0705160794

DEDICATORIA

A Dios principalmente por brindarme salud y permitirme estar donde estoy ahora.

Con mucho amor a mis padres Eddin y María por ser el motor de mi vida, los cuales me impulsan a ser una mujer de bien cada día de mi vida, por su apoyo incondicional y sacrificio todos estos años para conmigo ya que sin su amor y consejos no sería quien soy ahora.

A mis abuelitos Juan y Juana por sus consejos y paciencia, aunque ahora ya no estén físicamente conmigo sé que desde el cielo celebrarán esta meta en mi vida.

A mis hermanos Leonardo, Juan Carlos y Andrés, que siempre han estado pendientes de mí y me han ayudado cuando lo he necesitado.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por cada día de mi vida, por escuchar mis oraciones y guiarme por el buen camino.

A mis padres por apoyarme en cada paso que he dado, por su amor, por creer en mí, por enseñarme a ser responsable y entender que sin esfuerzo no se logran las metas que soñamos.

A mi novio Marlon que fue parte fundamental para cumplir esta meta ya que estuvo conmigo en los buenos y malos momentos dispuesto a darme ánimos para llegar a mi objetivo final.

A mis profesores de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia por la paciencia y falta de egoísmo para compartir sus conocimientos, especialmente al Dr. Juan Masache por guiarme para la realización de este trabajo.

A mis amigos y a todas las personas que de una u otra manera me apoyaron en este camino.

RESUMEN

El presente trabajo experimental se realizó en la Ciudad de Cuenca y tuvo como objetivo diagnosticar Parvovirus Canina mediante las técnicas de ELISA cualitativa y cuantitativa. Se muestrearon 62 caninos con edades comprendidas entre las 3 y 48 semanas a los cuales se les hizo el Test rápido o Elisa cualitativa mediante hisopado rectal y posterior a ello se extrajo una muestra sanguínea para la realización de la prueba Elisa Cuantitativo.

Al realizar la técnica de Elisa cualitativa, 40 caninos fueron positivos a parvovirus canino lo que representó el 64.5% y 20 caninos negativos correspondiente al 35.5%.

En la Técnica de Elisa cuantitativa 40 muestras presentaron títulos de anticuerpos IgM por encima del punto de corte (0.635) resultando positivos y 20 muestras con títulos de anticuerpos por debajo del punto de corte lo que indicó negatividad en aquellos caninos.

De los 40 caninos positivos, 27 fueron machos lo cual representó un 67.5% y 13 hembras con un 32.5%, de acuerdo a la edad 24 caninos se encontraban entre 1 a 3 meses, 13 entre 4 a 6 meses y 3 con edades entre los 7 a 9 meses. La raza con mayor prevalencia fue la mestiza con 15 casos positivos correspondiente al 37.50%.

ABSTRACT

The present experimental work was carried out in the City of Cuenca and it was aimed to diagnose Canine Parvovirus using qualitative and quantitative ELISA techniques. 62 canines were sampled between the ages of 3 and 48 weeks which the rapid test or qualitative Elisa was done by rectal swab and after that a blood sample was taken for the quantitative Elisa test.

When the qualitative Elisa technique was performing, 40 canines were positive for canine parvovirus which represented 64.5% and 20 negative canines corresponding to 35.5%.

In the quantitative Elisa Technique, 40 samples presented IgM antibody titres above the cut-off point (0.635), and 20 samples with antibody titres below the cut-off point which indicated negativity in those canines.

Of the 40 positive canines, 27 were males which represented 67.5% and 13 females with 32.5%, according to age 24 canines were between 1 to 3 months, 13 between 4 to 6 months and 3 with ages between 7 to 9 months. The race with the highest prevalence was the mestizo with 15 positive cases corresponding to 37.50%.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	16
1.1. PROBLEMA	17
1.2. DELIMITACIÓN.....	17
1.2.1. Temporal	17
1.2.2. Espacial	17
1.2.3. Académica.....	18
1.3. EXPLICACIÓN DEL PROBLEMA.....	18
1.4. OBJETIVOS.....	19
1.4.1. Objetivo General	19
1.4.2. Objetivos Específicos.....	19
1.5. HIPÓTESIS	19
1.5.1. Hipótesis Alternativa.....	19
1.5.2. Hipótesis Nula.....	19
1.6. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	20
2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL.....	21
2.1. Parvoviridae.....	21
2.2. Replicación Viral.....	21
2.3. Parvovirus Canino	21
2.4. Etiología	22
2.5. Epidemiología	23

2.6. Razas susceptibles	23
2.7. Fisiopatología	24
2.8. Patogenia	24
2.9. Período de incubación	25
2.10. Transmisión	25
2.11. Manifestaciones clínicas.....	26
2.11.1. Cuadro sobreagudo	26
2.11.2. Cuadro subagudo	26
2.11.3. Cuadro Agudo.....	26
2.12. Formas de presentación	27
2.12.1. Forma entérica	27
2.12.2. Forma cardíaca	28
2.13. Anatomía patológica.....	28
2.14. Condiciones y afecciones asociadas	29
2.15. Diagnóstico.....	29
2.15.1. Diagnóstico Clínico	29
2.15.2. Laboratorio clínico	29
2.15.3. Métodos de detección viral.....	30
2.16. Diagnóstico Diferencial.....	37
2.17. Pronóstico	37
2.18. Tratamiento	38
2.19. Control y Prevención.....	39
2.19.1. Vacunación	40

2.20. RESUMEN DEL ESTADO DEL ARTE DEL ESTUDIO DEL PROBLEMA...	41
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
3.1. MATERIALES FÍSICOS.....	43
3.2. MATERIALES QUÍMICOS.....	44
3.3. MATERIALES BIOLÓGICOS	44
3.4. MÉTODOS.....	44
3.4.1. Selección de los animales	44
3.4.2. Toma de constantes fisiológicas	44
3.4.3. Realización de Test rápido en heces	45
3.4.4. Extracción de la muestra de sangre.....	47
3.4.5. Medición de anticuerpos en el suero de los caninos	48
3.5. Diseño estadístico.....	52
3.5.1. Variable independiente: Identificación de la signología clínica de parvovirus 52	
3.5.2. Variable dependiente:	53
Medición de Anticuerpos IgM mediante Elisa cualitativo y cuantitativo	53
3.6. Población y Muestra.....	53
3.7. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	54
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	55
4.1. Resultados obtenidos en la prueba de ELISA cualitativa.....	55
4.2. Resultados obtenidos en la prueba ELISA cuantitativa	56
4.3. Prevalencia de caninos positivos a parvovirus de acuerdo al sexo	58
4.4. Prevalencia de casos positivos de acuerdo a la edad.....	59
4.5. Prevalencia de parvovirus de acuerdo a la raza.....	61

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	63
5.1. Conclusiones	63
5.2. Recomendaciones	64
6. Referencias Bibliográficas.....	65
7. Anexos.....	70
7.1. Realización de la técnica ELISA cualitativa	70
7.2. Realización de la técnica ELISA cuantitativa	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales de campo	43
Tabla 2. Materiales Químicos	44
Tabla 3. Materiales Biológicos	44
Tabla 4. Porcentaje de caninos positivos y negativos en la prueba ELISA cualitativa	55
Tabla 5. Resultados obtenidos en la prueba ELISA cuantitativa.....	56
Tabla 6. Porcentaje de caninos positivos y negativos en la prueba ELISA cuantitativa	57
Tabla 7. Prevalencia de acuerdo al sexo	58
Tabla 8. Prevalencia de acuerdo a la edad	59
Tabla 9. Prevalencia de acuerdo a la raza	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la Ciudad de Cuenca	18
Figura 2. Corazón de un cachorro con parvovirus muerto por miocarditis	26
Figura 3. Diarrea mucosanguinolenta producida por parvovirus canino	27
Figura 4. Procedimiento de la prueba	46
Figura 5. Resultado negativo	46
Figura 6. Resultado positivo	46
Figura 7. Porcentaje de caninos positivos y negativos	55
Figura 8. Títulos de anticuerpos en caninos positivos a parvovirus	57
Figura 9. Porcentaje de caninos positivos y negativos en la prueba ELISA cuantitativo.....	58
Figura 10. Prevalencia de parvovirus de acuerdo al sexo.....	59
Figura 11. Prevalencia de parvovirus de acuerdo a la edad.....	60
Figura 12. Prevalencia de parvovirus canino de acuerdo a la raza	62

1. INTRODUCCIÓN

“La parvovirus canina es una enfermedad infectocontagiosa que afecta a los caninos, con una distribución mundial, morbimortalidad variable, caracterizada por una gastroenteritis hemorrágica” (Brusa, 2014, p. 67).

Existen dos tipos de parvovirus que infectan a los caninos. El PVC-1 también conocido como “virus diminuto de los caninos”, es un virus relativamente apatógeno que a veces causa gastroenteritis, neumonitis y/o miocarditis en cachorros jóvenes. El PVC-2 es responsable de la enteritis parvoviral clásica, este ocasiona signos a los 5-12 días de infectar al animal causando invasión y destrucción rápida de células progenitoras en la médula ósea y epitelio de las criptas intestinales. (Nelson y Couto, 2005, p. 462)

El virus puede ser pantropico, infectando una amplia gama de células de diferentes tejidos y órganos (Greene, 2008, p. 276). Probablemente los factores más importantes que determinan la susceptibilidad del virus son el grado de división celular en un determinado órgano o tejido y la presencia de receptores víricos adecuados sobre las células (Miriakshi y Posada, 2008, p. 16). Por esto, en animales recién nacidos, el miocardio resulta altamente susceptible, la continua división de células linfoides y del epitelio intestinal en cualquier edad, hace que ambos sean afectados; por lo que la inmunosupresión y la enteritis son de presentación frecuente (Ezeibe , et al., 2010, p. 1210).

En la actualidad se dispone de pruebas de ELISA que detectan antígeno fecal, y aunque son sensibles y efectivas, el período en que puede evidenciarse la excreción fecal es breve. Los resultados positivos pueden ser debidos a enfermedad o a vacunación con virus atenuados (5-12 días después de la inmunización). Los resultados negativos no descartan enfermedad.

Las pruebas de ELISA en materia fecal permiten diferenciar IgG de IgM. También es posible el diagnóstico serológico, titulando la Ig G e IgM mediante inhibición de la

hemoaglutinación. El título de anticuerpos puede evidenciarse 3-4 días tras la infección, y puede permanecer alto por un año. Un título alto en una muestra aislada, después de que el perro ha estado enfermo, es diagnóstica. También es diagnóstica la seroconversión con muestras de 10-14 días de diferencia. (Feijoó y Gómez, 2012, p. 337)

1.1. PROBLEMA

La parvovirus canina es una enfermedad vírica de alta morbilidad y mortalidad, siendo los cachorros el grupo con mayor susceptibilidad. Un programa de inmunización adecuado puede prevenir esta enfermedad en los canes, pero muchas de las veces estas vacunas son ineficaces por diferentes factores como mal manejo de las vacunas, interferencia de anticuerpos maternos, descuido de los propietarios, entre otros. Con la realización de este estudio se pretende identificar caninos positivos a esta enfermedad que no han sido diagnosticados y son un foco de diseminación de las enfermedades antes mencionadas. Esto ayudaría a establecer medidas de prevención y control en los propietarios y a concientizar sobre la responsabilidad que conlleva tener una mascota y la gravedad de esta enfermedad altamente mortal.

1.2. DELIMITACIÓN

1.2.1. Temporal

El proceso de investigación tuvo una duración de 400 horas, las cuales fueron distribuidas en el proceso experimental y redacción del documento final.

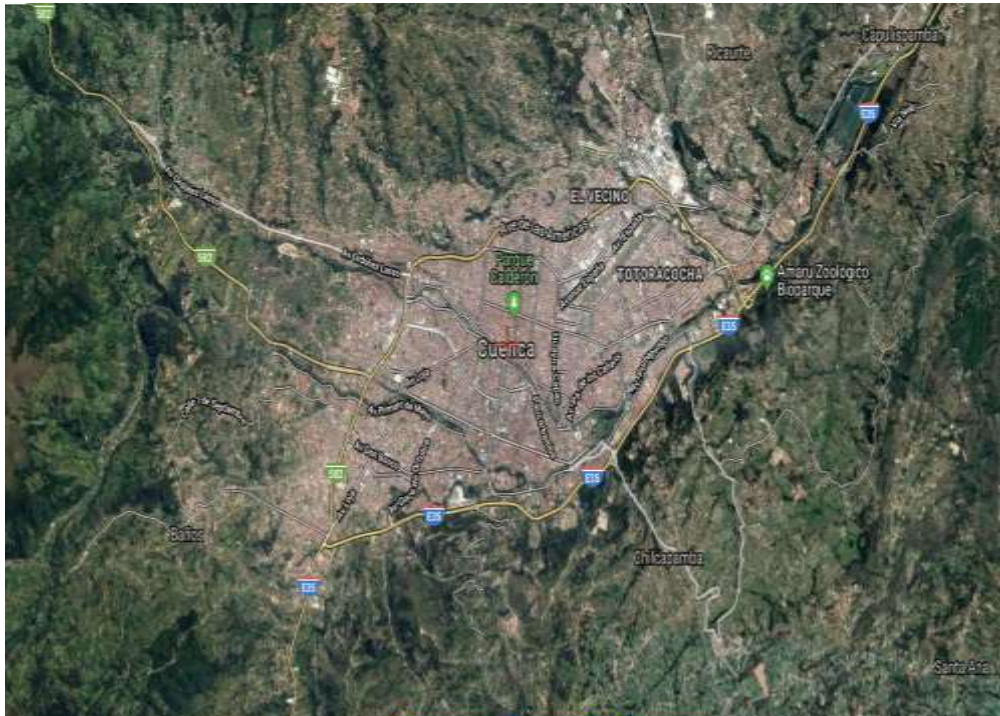
1.2.2. Espacial

El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio Clínico de la Clínica Veterinaria “POLIVET” de la Universidad Politécnica Salesiana, para lo cual se empleó muestras sanguíneas de caninos obtenidas en diversas clínicas veterinarias del Cantón Cuenca.

El Cantón Cuenca está ubicado geográficamente entre las coordenadas 2°39' a 3°00' de latitud sur y 78°54' a 79°26' de longitud oeste, con una altura sobre el nivel del mar que varía

de 100 a 4560 m., la zona urbana se encuentra a una altitud de 2560 msnm aproximadamente. Limita al norte con la Provincia del Cañar, al sur con los Cantones Camilo Ponce Enríquez, San Fernando, Santa Isabel y Girón, al oeste con las Provincias del Guayas y hacia el este con los Cantones Paute, Gualaceo y Sígsig. (Bermeo, 2012, p. 12)

Figura 1. Mapa de la Ciudad de Cuenca



Fuente: (Google Maps, 2018).

1.2.3. Académica

Con el trabajo experimental realizado, perteneciente al área de Laboratorio Clínico dentro de Sanidad Animal, se fomenta conocimientos acerca de la Técnica de Elisa Cuantitativa para el diagnóstico de Parvovirus Canina cuando se requiera medición de anticuerpos de la enfermedad antes mencionada.

1.3. EXPLICACIÓN DEL PROBLEMA

Con el pasar de los años los propietarios de caninos se han ido concientizando sobre la importancia de mantener al día el plan de vacunación de sus cachorros con la finalidad de evitar

enfermedades virales que muchas de las veces tienen un desenlace fatal para el animal, como la Parvovirus Canina que se desarrolla en caninos que no cuentan con un plan de vacunación completo. El estudio experimental llevado a cabo con la finalidad de brindar información a los propietarios de caninos sobre la importancia de inmunizar a sus mascotas para evitar este tipo de enfermedades y así mismo brindar información a los médicos veterinarios sobre la eficacia de los Test rápidos para la detección de Parvovirus Canino y los Kits de Elisa cuantitativa.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo General

- Diagnosticar parvovirus en caninos machos y hembras mediante la técnica de ELISA cualitativa y cuantitativa

1.4.2. Objetivos Específicos

- Realizar el diagnóstico de parvovirus en caninos de 4 a 48 semanas mediante el Test de ELISA cualitativa
- Realizar el diagnóstico de parvovirus en caninos de 4 a 48 semanas para medición de anticuerpos mediante el Test de ELISA cuantitativa
- Determinar la prevalencia de parvovirus canino de acuerdo a la edad, sexo y raza.

1.5. HIPÓTESIS

1.5.1. Hipótesis Alternativa

Los caninos positivos a la prueba ELISA cualitativa resultarán positivos a la prueba ELISA cuantitativa sin distinción de género

1.5.2. Hipótesis Nula

Los caninos positivos a la prueba ELISA cualitativa resultarán negativos a la prueba ELISA cuantitativa sin distinción de género

1.6. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

El presente trabajo está enfocado en el diagnóstico de parvovirus canino mediante dos técnicas, Elisa cualitativa y cuantitativa.

El diagnóstico mediante Elisa cualitativa nos indica si el canino es Positivo o Negativo a la enfermedad; mientras que con Elisa cuantitativa medimos la cantidad de anticuerpos contra parvovirus canino presente en los pacientes. La finalidad es brindar opciones para los Médicos Veterinarios acerca de qué técnica usar y en qué momento usar cada una de ellas para obtener un diagnóstico adecuado.

2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

2.1. Parvoviridae

Los virus pertenecientes a la familia Parvoviridae son conocidos como parvovirus. Son virus pequeños (del latín *parvus*, pequeño), su tamaño oscila desde 18 a 26 nm de diámetro. No tienen envoltura y poseen simetría icosaédrica además constan de un genoma compuesto por ADN monocatenario lineal. Existen dos subfamilias: *Parvovirinae*, que incluye los virus de los vertebrados y *Densovirinae* cuyos miembros infectan a los artrópodos. (Quinn, Markey, Carter, Donnelly, y Leonard, 2008, p. 427)

La familia Parvoviridae incluye a los virus más pequeños, la falta de envoltura los hace resistentes a los solventes como éter y cloroformo y su cápside estable les brinda resistencia a la temperatura (60°C) y a pH de 3-9. Son demasidamente resistentes al medio ambiente (Stanchi, 2010, p. 395).

2.2. Replicación Viral

Su genoma pequeño (5000 nucleótidos) limita su replicación, de tal manera que solamente se puede replicar en células en plena división, o como en el caso de los *Dependovirus* que requieren la presencia de un adenovirus para completar su replicación. Para la transcripción del ADN monocatenario se tiene que convertir en bicatenario para recién transcribirse en mRNA utilizando una transcriptasa celular. Tanto los procesos replicativos como madurativos ocurren en el núcleo de la célula hospedadora donde dejan cuerpos de inclusión que desplazan la cromatina. (Stanchi, 2010, p. 395)

2.3. Parvovirus Canino

“La infección por parvovirus canino es una enfermedad vírica mortal que afecta a cachorros o a perros adultos no vacunados, aunque más del 85% de los perros infectados son menores de

un año. La tasa de mortalidad asociada a parvovirus oscila entre 16 y 48%” (Fernández, 2012, pp. 100-101).

“El parvovirus es un virus pequeño responsable de la temida enfermedad denominada parvovirus. Afecta principalmente a caninos jóvenes a partir de la sexta semana al carecer de inmunidad materna, es poco frecuente en caninos adultos” (Durán, 2016, p. 128).

El parvovirus canino (CPV), reconocido por primera vez como un virus emergente de los perros en 1978, resultó de una transmisión exitosa de especies cruzadas. El CPV surgió del virus endémico de la panleucopenia felina (FPV) o de un parvovirus estrechamente relacionado de otro huésped. (Hoelzer, Shackelton, Parrish, y Holmes, 2008, p. 2281)

“El parvovirus se considera un mutante del virus de la panleucopenia felina de otro parvovirus muy relacionado con él que ha cambiado su gama de hospedadores” (Quinn, et al., 2008, pág. 431).

El CPV-2 se adaptó a la especie canina por mutación del virus de la Panleucopenia felina (FPV) luego de su paso por animales silvestres como el hurón y los zorros. La alta variabilidad de la proteína viral 2 (VP2) es la causa principal del amplio rango de hospedadores y de las reacciones cruzadas entre las variantes. (Díaz, Correa, y Vera, 2008, p. 57)

2.4. Etiología

“La enfermedad es producida por un virus ADN pequeño (20-25 nm), sin cubierta lipoproteica, de la familia Parvoviridae llamado Parvovirus tipo 2 (PVC-2) del cual existen tres cepas: (PVC -2a, PVC-2b y PVC-2c. (Es muy resistente en el medio ambiente, pudiendo sobrevivir durante meses” (Brusa, 2014, p.67).

El parvovirus canino (CPV) es un virus nuevo que continúa evolucionando y da lugar a nuevos tipos antigénicos y mutantes de virus que se diseminan a través de la población canina. Los mutantes más exitosos, desde una perspectiva evolutiva, parecen ser seleccionados

por una unión mejorada al receptor de CPV, el receptor de transferrina canina, y por un rango extendido de hospedadores, que para los tipos antigénicos más nuevos ahora incluye tanto al perro como al gato. Los nuevos virus también muestran diferencias antigénicas que se pueden definir por la unión de ciertos anticuerpos monoclonales; también difieren en su reactividad en las pruebas de neutralización del virus, utilizando sueros inmunes producidos contra los diversos tipos antigénicos. (Truyen, 2006, p. 9)

2.5. Epidemiología

En 1967 se identificó un virus canino diminuto que provocaba signos digestivos y respiratorios, que se denominó CPV-1, la mayoría de las infecciones son asintomáticas. Desde 1978 se describen infecciones sintomáticas por CPV-2, en la década de los 80 produce la pandemia, dada la ausencia de inmunidad natural ante CPV-2. Durante las primeras semanas de vida los cachorros presentan inmunidad materna si la madre tiene anticuerpos anti-CPV, pero desde las 6 semanas a los 6 meses dependen de la inmunidad vacunal. (Ruiz de Gopegui, 2016, p. 12)

2.6. Razas susceptibles

Se sabe que los perros como el labrador negro, el Rottweiler, el Springer Spaniel y el Doberman Pinscher son más susceptibles a desarrollar la infección por parvovirus canino. En las razas de perros que poseen un manto negro, el sistema inmunitario tarda más en desarrollarse y no es por completo maduro hasta después de los siete meses de edad, por lo que ellos requieren revacunaciones frecuentes hasta que alcancen esa edad, sobre todo contra parvovirus, enfermedad a la que son más susceptibles. (Gutiérrez, 2010, p. 272)

“Las razas que incluyen mayor riesgo a la enteritis por parvovirus canino son perros de las razas Doberman Pinscher y Rottweiler” (Tizard, 2009, p. 200).

“El rottweiler, el Pitbull Terrier Americano, el Doberman Pinscher y Pastor Alemán son las razas con mayor riesgo de contraer la enfermedad” (Fernández, 2012, p. 100).

2.7. Fisiopatología

El virus ingresa al organismo a través de la boca y se elimina por materia fecal. Para su multiplicación, el virus necesita de células con alta replicación (Brusa, 2014, p.67).

El parvovirus canino se replica activamente en células en división; epitelio intestinal, médula ósea y tejidos linfoides entre otras. La multiplicación del virus en el epitelio germinal de las criptas intestinales conduce a su destrucción, perdiendo la capacidad de absorción y provocando diarrea hemorrágica. Ésta provoca elevadas pérdidas de proteínas, fluidos e iones a través del tracto digestivo, originando una deshidratación severa e incluso shock hipovolémico. (García, 2007, p. 510)

La destrucción del epitelio de las criptas intestinales causa esfacelamiento de la mucosa intestinal, vómito, diarrea y sepsis a partir de la translocación de bacterias entéricas hacia la circulación portal debido a la degradación de la barrera epitelial intestinal (Coté, 2010, p. 467; Ettinger y Feldman, 2007, p. 647).

2.8. Patogenia

El PVC se replica en las células linfoides de la orofaringe, ganglios linfáticos mesentéricos y timo, después de 3 a 5 días se disemina por vía hematogena a las células de las criptas del intestino delgado y células epiteliales de la cavidad oral, lengua y esófago. Los órganos linfoides, pulmones, hígado, riñones, médula ósea y, en animales muy jóvenes, las células del miocardio también se infectan. En el intestino la necrosis de las células de la cripta infectada lleva al colapso de las vellosidades y pérdida de la integridad del epitelio intestinal y menos asimilación por alteración de la mucosa. La traslocación de bacterias y endotoxinas por pérdida de la barrera epitelial intestinal puede provocar bacteriemia sistémica, coagulación

intravascular diseminada y muerte, depleción de linfocitos y neutropenia, hipoglucemia, hipopotasemia, deshidratación y sepsis". (Ettinger y Feldman, 2007, pp. 646-647)

2.9. Período de incubación

Según Coté (2010) el periodo de incubación del parvovirus canino es de 3 a 14 días (p. 467). Mientras que Durán (2016) indica que el período de incubación es de cinco días aproximadamente (p.128).

2.10. Transmisión

El virus es muy contagioso principalmente mediante la ruta fecal-oral (Coté, 2010, p. 467; Ettinger y Feldman, 2007, p. 646).

La excreción fecal comienza a los 4-5 días de la exposición, dura 7-10 días y finaliza el día 14 posexposición. El animal que es dado de alta presenta bajo riesgo de contagio para otros perros a través de la defecación (durante 3 semanas), pero existe gran riesgo de contagio mediante suciedad fecal del pelaje o las heces y vómitos producidos en el hogar antes de la internación. (Coté, 2010, p. 467)

Existen factores que predisponen a los caninos a la enfermedad, entre ellos se encuentra: el estrés, el hacinamiento, la presencia de parásitos internos y la baja inmunidad vacunal. El contagio del PVC ocurre por contacto fecal-oral y fómites, Siendo la primera la más frecuente. (Ruiz, Cardona, y Ducang, 2007, p. 23)

Los animales con enfermedad clínica y/o subclínica, tienen la capacidad de liberar al medioambiente grandes cantidades de virus (>10⁹ partículas virales por g. de m. fecal). La dosis infectante mínima para un perro es de ≈10³ partículas virales, por lo que 1 g. de heces contaminadas, potencialmente podrían enfermar a 1.000.000 de perros susceptibles. (Mauro, 2015, p. 4)

2.11. Manifestaciones clínicas

2.11.1. Cuadro sobreagudo

Presente en cachorros entre las 4 y 12 semanas de edad. Se caracteriza por disnea, quejidos, vómitos improductivos y muerte en pocos minutos u horas denominado también Síndrome Miocárdico. Los cachorros que sobreviven a este cuadro presentan alteraciones electrocardiográficas, congestión cardíaca y edema pulmonar. (Durán, 2016, p. 130)

Figura 2. Corazón de un cachorro con parvovirus muerto por miocarditis



Fuente: (Ettinger y Feldman, 2007)

2.11.2. Cuadro subagudo

“Leve diarrea que fácilmente responde al tratamiento, el animal permanece como portador sano de la enfermedad y no presenta hipertermia” (Durán, 2016, p. 130).

2.11.3. Cuadro Agudo

Se presenta con vómitos severos y explosivos, anorexia, decaimiento y diarreas de color gris amarillento pastosas o acuosas al inicio y luego contiene variables cantidades de sangre. Este cuadro conlleva a una deshidratación rápida que afecta a los cachorros gravemente (Durán, 2016, p. 130).

Figura 3. Diarrea mucosanguinolenta producida por parvovirus canino



Fuente: (Ettinger y Feldman, 2007)

2.12. Formas de presentación

Existen en el cachorro dos formas de presentación: la entérica, y la miocárdica. Esta última ha ido desapareciendo, ya que afectaba a cachorros muy jóvenes, que ahora están protegidos por anticuerpos maternos, debido a que las perras fueron vacunadas, o sufrieron enfermedad clínica o subclínica. (Feijoó y Gómez, 2012, p. 336)

2.12.1. Forma entérica

La infección intestinal puede presentarse en forma no aparente, hasta enfermedad aguda, con anorexia, hipertermia, vómitos, diarrea, dolor abdominal intenso, deshidratación y shock hipovolémico. La temperatura puede estar al principio elevada (entre 40-41° C), y luego ser normal o llegar a la hipotermia. El vómito es grave y va seguido por la diarrea, al principio de color amarillo grisáceo, y luego con estrías de sangre, o francamente hemorrágica y de olor fétido. La muerte por lo general sucede como consecuencia de shock hipovolémico o endotóxico, luego de dos días de empezados los síntomas. (Feijoó y Gómez, 2012, p. 336)

2.12.2. Forma cardíaca

Aparece en cachorros jóvenes, especialmente al inicio del periodo neonatal, la infección conducía a necrosis miocárdica con insuficiencia cardiopulmonar aguda o formación de cicatrices en el miocardio e insuficiencia cardiaca progresiva (Kahn, 2007, p. 312).

La parvovirus neonatal puede presentar un curso sobreagudo que termina en muerte súbita, los signos clínicos que se presentan son: vocalización, arcadas, disnea y muerte súbita. Se trata de un proceso de miocarditis linfoplasmocítica multifocal que cursa con degeneración, necrosis y cuerpos de inclusión intranucleares que tiene lugar antes de las 8 semanas de edad, es poco frecuente y puede deberse a la infección in útero o en neonatos de madres no inmunizadas. (Ruiz de Gopegui, 2016, pp. 13-14)

2.13. Anatomía patológica

Microscópicamente se observa contenido intestinal acuoso, hemorrágico y oscuro, con una severa congestión vascular y erosiones superficiales, aguda necrosis del epitelio intestinal desde la base de las criptas hasta la cima de las vellosidades intestinales. Generalmente estas lesiones se ubican en el intestino delgado y en casos severos se propagan al colon ascendente. En el síndrome Miocarditis se observan líneas pálidas en el miocardio, corazón dilatado afectando más al ventrículo izquierdo. Las lesiones secundarias incluyen edema pulmonar, ascitis, congestión hepática y esplénica. (Feijoó y Gómez, 2012, pp. 131-132)

En el intestino puede observarse necrosis del epitelio de las vellosidades y de las criptas. En la necropsia el intestino se encuentra enrojecido en yeyuno e íleon, la serosa tiene un aspecto brillante y la mucosa se observa enrojecida, contenido intestinal sanguinolento y fétido. No es raro encontrar áreas de intususcepción. (Trigo, 2011, p. 95)

El virus del parvovirus canino provoca anemia aplásica, la médula sufre una despoblación celular que se traduce en el torrente sanguíneo como citopenia, alteraciones displásicas, monocitosis, neutropenia (Morales, 2009, pp. 82, 116-130).

2.14. Condiciones y afecciones asociadas

Siempre se debe sospechar de sepsis, debido a la bacteriemia frecuente, en el 90 % de los casos mortales, los cultivos de hígado o pulmón revelaron la presencia de *Escherichia coli*. En forma concurrente se puede presentar helmintiasis, giardiasis, coccidiosis y coronavirus. (Coté, 2010, p. 467)

2.15. Diagnóstico

2.15.1. Diagnóstico Clínico

La signología clínica nos puede orientar en el diagnóstico, pero dado que es inespecífica, debe ser corroborada con datos de laboratorio. El PVC puede ser aislado en cultivos celulares a partir de materia fecal o de yeyuno íleon, y ganglios mesentéricos entre el día 3 y 12 de producida la infección. Luego los viriones se recubren de anticuerpos y se eliminan. Puede evidenciarse por inmunofluorescencia directa a partir de materia fecal. (Durán, 2016, p. 337)

El cuadro típico consiste en la presencia de diarrea hemorrágica aguda, vómito, anorexia, depresión, deshidratación y fiebre en un cachorro no vacunado (Ruiz de Gopegui, 2016, p.16).

2.15.2. Laboratorio clínico

Hemograma completo, recuento de serie blanca que presentará una leucopenia durante los primeros cuatro a cinco días de la enfermedad, posteriormente presentará leucocitosis con linfocitosis debido al cuadro bacteriano. El recuento de la serie roja para evaluar el grado de anemias en casos de hemorragias. (Durán, 2016, pp. 130-131)

La leucopenia es común, hipopotasemia, hipoalbuminemia e hipoglucemia son efectos secundarios corregibles. La azotemia a menudo prerrenal e hiperactividad enzimática hepática son frecuentes (Coté, 2010, pp. 467-468).

2.15.3. Métodos de detección viral

2.15.3.1. Métodos directos

Son aquellos que detectan la presencia del virus o algunos de sus componentes en muestras clínicas, se investiga la presencia de agentes infecciosos mediante aislamiento viral, antígenos virales por técnicas de inmunomarcación mediante ELISA, partículas virales por microscopía electrónica (Carballal y Oubiña, 2014, p. 206).

2.15.3.2. Métodos indirectos

Se denominan serológicos, son aquellos que investigan la respuesta inmune humoral mediada por anticuerpos específicos antivirales en el suero o plasma del paciente, para este tipo de método se debe determinar la conversión serológica o bien la presencia de IgM específica antiviral. (Carballal y Oubiña, p.207)

La serología es el estudio in vitro de las reacciones antígeno-anticuerpo. Pueden desarrollarse inmunoanálisis para su uso con suero, sangre o plasma, algunos análisis solo son cualitativos y otros son cuantitativos. Una vez expuesto a xenoantígenos, el sistema inmunitario genera anticuerpos séricos (respuesta humoral), el ELISA y otras pruebas serológicas se utilizan para detectar anticuerpos séricos frente a microorganismos infecciosos. El ELISA es un tipo de análisis adaptado para detectar respuestas de IgM, IgG o IgA específicas. (Ettinger y Feldman, 2007, p. 600)

Anticuerpos: Son un conjunto heterogéneo de proteínas producidos debido a la estimulación antigénica del sistema inmunológico, los cuales tienen la propiedad de reaccionar específicamente con el antígeno responsable de inducir su producción (Rojas, 2006, p. 179).

Anticuerpos materno-fetal: Los anticuerpos maternos son los únicos elementos de la inmunidad adquirida con los que cuenta el producto en gestación, debido a que en la placenta solo hay receptores FcγR, son los anticuerpos IgG los únicos que pueden pasar de la circulación materna a la circulación del producto. (Rojas, 2006, p.169)

“Los anticuerpos IgG durante la preñez o embarazo pueden atravesar la placenta y proporcionan anticuerpos protectores de la madre al feto para prevenir una posible infección” (Parham, 2005, p. 64).

Anticuerpos IgM: Son los primeros producidos en una respuesta inmunitaria contra un patógeno, las inmunoglobulinas M son elaboradas principalmente por las células plasmáticas residentes en los ganglios linfáticos, bazo y médula ósea. Pueden destruir microorganismos directamente o facilitar la fagocitosis (Parham, 2005, p.63).

Antígenos: Son macromoléculas presentes en un microorganismo invasor, los cuales generan una respuesta inmunitaria (Tizard, 2010, p.82).

El momento de la determinación de los anticuerpos es importante, en cachorros de perros y gatos no se deben interpretar como respuestas específicas hasta las 8-12 semanas de edad, debido a la presencia de anticuerpos maternos que pasan a través del calostro. La utilidad diagnóstica de algunas pruebas serológicas también está limitada por la presencia de anticuerpos inducidos por la vacunación. Los resultados positivos se deben interpretar sólo como una evidencia de infección presente o pasada por el microorganismo en cuestión. (Ettinger y Feldman, 2007, p. 600)

Es importante que los test serológicos utilicen proteínas específicas de la enfermedad en cuestión. Los test que emplean variedades de agentes infecciosos de animales de granja que también pueden causar enfermedad en pequeños animales, es probable que den lugar a falsos positivos, al igual que la presencia de anticuerpos maternos. (Ramsey y Tennant, 2012, p. 17)

La detección de IgM específica nos permite obtener un diagnóstico certero mediante la obtención de suero en el período agudo o convalecencia temprana, en la gran parte de infecciones víricas la IgM específica está presente desde el tercer día de iniciada la enfermedad en títulos muy bajos que luego ascienden entre los 10 y 20 días, por lo tanto, la presencia de IgM nos indica una infección en curso. (Carballal y Oubiña, p.213)

La presencia de IgM, un título creciente a los largo de 2 o 3 semanas o la seroconversión (un resultado negativo de anticuerpos en la prueba inicial con un resultado positivo durante la convalecencia) indican una infección activa o reciente (Ettinger y Feldman, 2007, pp. 600-601).

2.15.3.2.1. Prueba de ELISA

Serie de pruebas de altísima sensibilidad (detectan cantidades iguales a nanogramos) y aceptable especificidad, caracterizadas por la acción de un Anticuerpo conjugado con una enzima siendo las más comunes la peroxidasa o la fosfatasa alcalina (Stanchi, 2010, p. 150).

Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas, es una prueba de unión primaria, una de las pruebas más sensibles y específicas que detectan el antígeno o el anticuerpo (Tizard, 2009, p. 509).

La prueba de inmunoabsorción enzimática es una de las técnicas serológicas más versátiles para el diagnóstico de enfermedades infecciosas y se utiliza tanto para la detección de antígenos como anticuerpos, el principio se basa en la inmovilización de un antígeno en un pocillo de plástico con anticuerpos, siendo después detectado con un segundo anticuerpo. (Ramsey y Tennant, 2012, p. 21)

La mayor ventaja del ELISA es la amplificación de la reacción que se consigue con cada complejo anticuerpo-enzima, que es capaz de reaccionar con muchas moléculas de sustrato

para dar lugar a un producto de color. El principal inconveniente es que las reacciones se producen en medio líquido, requiriendo de varias soluciones y una técnica adecuada de pipeteo. (Ramsey y Tennant, 2012, p. 21)

2.15.3.2.2. ELISA en microplaca o indirecto

ELISA en que la reacción antígeno-anticuerpo primaria se detecta utilizando una antiglobulina marcada con enzima (Ettinger y Feldman, 2007, p. 601).

Se utiliza para detectar y cuantificar anticuerpos específicos. Para realizar esta técnica, primero se llenan los pocillos de las microplacas de poliestireno con una solución de antígeno. Las proteínas se unen firmemente a las superficies de poliestireno, los pocillos quedan recubiertos con una capa de antígeno después de que el antígeno sin unir se haya eliminado por un lavado enérgico. El suero para analizar se añade a los pocillos, de manera que los anticuerpos específicos del suero se unirán a la capa de antígeno, luego de incubar y lavar para lavar los anticuerpos sin unir, la presencia de anticuerpos unidos se detecta por la adición de una solución que contiene una antiglobulina ligada químicamente a una enzima. Esta antiglobulina marcada se unirá al anticuerpo y después de la incubación y el lavado, se detecta y se mide al añadir una solución que contiene el sustrato de la enzima. La enzima y el sustrato se seleccionan para asegurar que se desarrolla un producto coloreado en el pocillo. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en el suero analizado. (Tizard, 2009, p.513)

2.15.3.2.3. ELISA tipo sándwich

“Tipo de ELISA en que un anticuerpo captura el analito y otro anticuerpo, ligado a una enzima, lo detecta” (Ettinger y Feldman, 2007, p. 601).

Se emplea para detectar y cuantificar un antígeno específico. Previo al análisis, los pocillos de las placas de poliestireno se recubren con un anticuerpo específico (anticuerpo de captura).

Luego se añade la solución de antígeno a analizar a cada pocillo y el anticuerpo de captura se unirá al antígeno presente en la solución problema. Posterior al lavado se adiciona un anticuerpo específico que también se une al antígeno (anticuerpo de detección). Tras la incubación, se lavan de nuevo las placas para eliminar el anticuerpo sin unir, se añade la antiglobulina marcada con una enzima y el sustrato. El anticuerpo de captura y detección deben ser de diferentes especies y la antiglobulina específica de especie se use para visualizar el anticuerpo de detección, esto evitará falsos positivos. Esta prueba implica la formación de capas de anticuerpo-antígeno-anticuerpo. (Tizard, 2009, pp.513-514)

2.15.3.2.4. ELISA de antígeno marcado

Se emplea para detectar anticuerpos, es el más utilizado en los kits de diagnóstico comerciales. El antígeno está unido a los pocillos antes del análisis, se añade el suero a analizar, se incuba, se lava la placa y se añade un antígeno marcado. Al unirse los anticuerpos al antígeno marcado, lo fijan al pocillo y se puede medir. (Tizard, 2009, p.514)

2.15.3.2.5. ELISA competitivo

“ELISA en que la detección del analito se basa en su capacidad de inhibir cuantitativamente la unión de una cantidad conocida de un analito estándar a una cantidad limitada de anticuerpo” (Ettinger y Feldman, 2007, p. 601).

Se basa en el principio de la unión de anticuerpos, los Antígenos presentes en los tejidos y las posterior inhibición de un anticuerpo ligado a una enzima que reacciona con el antígeno, la ausencia de color denota una reacción positiva y la cuantificación de la reacción se realiza por medio de un lector de densidad óptica con el filtro adecuado a la enzima y el sustrato utilizados. (Stanchi, 2010, p.90)

Sirve para cuantificar moléculas de haptenos o antígenos víricos, en esta técnica previo al análisis, el pocillo está recubierto con un anticuerpo específico. En una única reacción se

depositan en el pocillo la muestra a analizar y el antígeno marcado con una enzima, compitiendo así los antígenos por los sitios de unión de los anticuerpos por lo que la cantidad de antígeno marcado unido al pocillo es inversamente proporcional a la concentración de antígeno en la muestra problema. (Tizard, 2009, p.514)

2.15.3.2.6. ELISA fecal

Procedimiento de elección, sensible y específico, posible falso positivo con vacunación reciente (5 a 12 días posvacunación) y posibles negativos falsos con muestras fecales que hayan sido obtenidas fuera del período de excreción o diarrea hemorrágica profusa ya que el antígeno diluido o en complejos no reacciona con el anticuerpo de análisis. (Coté, 2010, p. 467)

La prueba ELISA para parvovirus detecta antígenos víricos en las heces. Se debe tener cuidado al interpretar los resultados en perros vacunados recientemente con la vacuna atenuada frente a parvovirus, puesto que pueden excretar el virus durante 5 a 12 días tras la vacunación provocando falsos positivos. (Aspinall, 2014, p. 646)

Método rápido, preciso y barato cuya limitación incluyen los breves periodos de eliminación de antígenos y la incapacidad de las pruebas actuales para discriminar las cepas víricas vivas modificadas que pueden estar presentes en las heces por aproximadamente una semana, comenzando 5 días después de la vacunación a partir de las cepas patógenas lo que puede ocasionar falsos negativos y positivos. (Ettinger y Feldman, 2007, p. 647)

“En cachorros, independientemente de su pauta vacunal. Hay que tener en cuenta que aquellos pacientes vacunados hacen 3-7 días pueden ofrecer resultados falsos positivos” (Torrente y Bosch, 2011, p. 189).

Es un ELISA que detecta el antígeno (Ag) de CPV en muestra fecal. El pico de eliminación viral en heces se produce 4-7 días tras la infección. Los test diagnósticos que se comercializan

actualmente constituyen un método rápido cuyo uso está muy extendido en la práctica veterinaria. La carga viral fecal (cantidad de Ag de CPV) puede ser la clave de que este tipo de test dé un resultado positivo o negativo, otra cuestión es qué sucede si hay un título de anticuerpos anti-CPV alto. Puede ser que acaben fijándose al Ag fecal y dificulten o impidan la reacción positiva del test ELISA. (Ruiz de Gopegui, 2016, pp. 16-17)

Los animales que han recibido una vacuna viva de CPV-2 también pueden dar falso positivo en algunas pruebas de detección de virus en heces (Villiers y Blackwood, 2013, p. 594).

2.15.3.3. Microscopía electrónica directa

“A partir de muestras fecales, es una técnica costosa que requiere equipamientos y un manejo especial; la mayor parte se utiliza para seguimientos de casos particulares de investigación” (Willard y Tvedten, 2006, p. 219).

2.15.3.4. Inmunocromatografía

“Es otro método de diagnóstico utilizado por un simple y rápido procedimiento, requiere grandes cantidades de antígeno viral para que se produzca un resultado confiable” (Ruiz, Cardona y Ducang, 2007, p. 24).

2.15.3.5. Inhibición de la Hemoaglutinación

Carmichael, Joubert y Pollock, 1980 (como se citó en Flores, 1987) afirma: El parvovirus canino es capaz de aglutinar a los glóbulos rojos de cerdos, para determinar su presencia en heces se centrifugan suspensiones de materia fecal y se hacen diluciones con el sobrenadante, a cada dilución se le añaden eritrocitos de cerdo. Con este procedimiento es posible establecer un título hemoaglutinante del virus de la muestra. Posteriormente se intenta inhibir la reacción, repitiendo la prueba, pero añadiendo suero anti-parvovirus canino.

Consiste en hacer reaccionar un virus con capacidad hemaglutinante con su anticuerpo específico, éste anulará su capacidad de hemoaglutinación por bloqueo de las hemaglutininas.

En antisuero neutralizará esta actividad viral y luego, al agregarse los glóbulos rojos, éstos no serán aglutinados. Si se desea investigar la presencia de anticuerpos en animales sospechosos de padecer una enfermedad causada por un virus hemaglutinante, éstos pueden ponerse en evidencia enfrentando el suero del animal afectado con una suspensión vírica convenientemente estandarizada. Técnica sensible y específica que requiere de equipamiento mínimo y lectura visual. (Stanchi, 2010, p. 150)

2.16. Diagnóstico Diferencial

Los signos clínicos asociados con la infección de la Parvovirus Canina son similares a otras enfermedades como: Coronavirus canino, Distemper canino (fase intestinal), Gastroenteritis Parasitaria, Gastroenteritis Bacteriana, Intoxicación, Intususcepción y obstrucción intestinal. Las cuales se pueden descartar por medio de los exámenes de laboratorio, rápida evolución de la enfermedad y la historia clínica del paciente. (Schaer, 2006, p. 78)

2.17. Pronóstico

La evolución del hemograma permite emitir un pronóstico fiable, la leucopenia se ha correlacionado con atrofia del timo y ganglios linfáticos y con hiperplasia relativa de la médula ósea. Si el recuento total de leucocitos, linfocitos, monocitos y eosinófilos sanguíneos es elevado, el pronóstico es favorable. (Ruiz de Gopegui, 2016, pp. 16-17)

“Favorable con el tratamiento adecuado, si se sigue el protocolo delineado se espera una tasa de éxito del 93-95% en casos graves y confirmados de enteritis parvoviral” (Coté, 2010, p. 467).

“Bueno, en perros que pueden ser hospitalizados y recibir tratamiento intensivo de alta calidad y Malo en perros que no pueden recibir un tratamiento hospitalario intensivo o que no reciben antibioterapia de amplio espectro” (Agut, et al., 2016, p. 241).

“Como enfermedad crítica puede cursar con disminución de tiroxina y aumento de cortisol lo que nos indica un pronóstico desfavorable” (Ruiz de Gopegui, 2016, p. 14).

“Los perros que se recuperan de la enteritis por PVC-2 desarrollan inmunidad duradera que puede ser de por vida. No se sabe si es necesaria la inmunización contra el PVC-1” (Nelson y Couto, 2005, p.464).

2.18. Tratamiento

No existe tratamiento dirigido frente al virus, por lo que el tratamiento gira entorno a conseguir un volumen circulatorio eficaz, controlar infecciones bacterianas secundarias y proporcionar descanso al tubo digestivo (Ettinger y Feldman, 2007, p. 647).

El tratamiento para parvovirus canino es sintomático, se inicia con fluidoterapia agresiva, de elección cristaloides (Lactato de Ringer) 40 a 60ml/kg/día, si fuese necesario corregir la deficiencia de glucosa mediante dextrosa 5%. Antieméticos como metoclopramida 0.5 mg/kg/8h SC o IV, antiácidos como la cimetidina 5-10 mg/kg/8h SC o IV, protectores de la mucosa: sucralfato 30-40 mg/kg/8-12h por vía oral, antibioterapia de amplio espectro Amoxicilina-clavulánico: 22mg/kg/12 h, Metronidazol 10mg/kg/12h. (Arenas, Cortés, y Del Castillo, 2009, pp. 170-171)

Productos neutralizantes de endotoxinas, reducen significativamente el riesgo de shock endotóxico. Una buena opción es utilizar el suero de animales que han superado la infección, el cual debe ser recogido dentro de los 4 meses post infección, este suero debe diluirse con solución salina fisiológica a partes iguales (4ml/kg) y administrarse por vía intravenosa en 30 a 60 minutos. (Arenas, Cortés y Del Castillo, 2009, p. 172)

“Entre las nuevas tendencias está el factor estimulante de colonias de granulocitos, estudios preliminares muestran que reduce la morbilidad y mortalidad. Dentro de estas tendencias

también se encuentra el Interferón Omega administrado por vía parenteral” (Arenas, Cortés y Del Castillo, 2009, p. 174).

2.19. Control y Prevención

Los perros con infección por PVC eliminan grandes cantidades de virus en las heces durante su enfermedad. Estos, así como los fómites y los sitios de contaminación, son muy infectivos para otros perros. Por tanto, se debe instruir al propietario de un perro infectado con PVC para que mantenga al perro aislado de otros animales hasta por lo menos una semana después de su recuperación completa. (Birchard y Sherding, 2002, p. 127)

El protocolo de vacunación adecuado es fundamental para la prevención del parvovirus (Cramer, Stylianides, y Van Vuuren, 2011, p. 126).

Los estudios prospectivos han demostrado una protección cruzada entre las variantes CPV-2b y CPV-2c. Sin embargo, para una protección completa y para evitar fallas de la vacuna es importante adherirse estrictamente a los protocolos de vacunación recomendados, con un enfoque especial en el esquema, el almacenamiento y la administración; La educación del propietario es importante en relación con la vulnerabilidad de un cachorro y el límite de su exposición a otros perros durante este tiempo. (Singh, Destito, Schneemann, y Manchester, 2006, p. 42)

El parvovirus se mantiene en el ambiente hasta 7 meses o más por esta razón se debe higienizar las superficies internas y luego ser desinfectadas con lavandina diluida (1:32 en agua) y con productos de amonio cuaternario tienen acción viricida. Solamente los perros inmunizados deben mantenerse en el ambiente inmediato del afectado. (Coté, 2010, pp. 467-469)

Hipoclorito sódico al 1%, formalina al 2% y la fumigación con gas de formaldehído son los métodos de desinfección más efectivos (Quinn, et al., 2008, p. 432).

2.19.1. Vacunación

La vacunación es el método principal para controlar la enfermedad en animales domésticos y en poblaciones cautivas de carnívoros salvajes. Las vacunas FPV de varios tipos han estado en el mercado desde la década de 1950, y las vacunas para MEV y CPV se desarrollaron poco después de que surgieron estas enfermedades, con la primera vacuna de CPV disponible en 1979. (Hoelzer y Parrish 2010, p.3)

“La vacunación es crucial, debe empezar a las 5 a 8 semanas y la última se debe administrar a las 16 a 20 semanas de vida” (Fernández, 2012, p. 101).

2.19.1.1. Factores que intervienen en la vacunación

2.19.1.1.1 Edad

Es muy bien conocido que los animales jóvenes o neonatos, los cuales en apariencia cuentan con un sistema inmunológico inmaduro, producen cantidades reducidas de anticuerpos, y éstos son del tipo IgM, que se caracterizan por tener una vida media corta y por no generar memoria.

Es por esto por lo que los individuos jóvenes deben revacunarse en forma periódica contra cualquier enfermedad que se quiera evitar, en intervalos no menores a 15 días, hasta que alcancen su madurez inmunológica. Por la misma razón, un animal adulto o mayor a los seis meses de edad, que ya tiene completamente maduro su sistema inmunológico y que produce anticuerpos de modo predominante del tipo IgG (los cuales tienen mayor duración), no necesitará revacunaciones a corto plazo, aun si no ha sido vacunado antes. (Gutiérrez, 2010, p. 271)

2.19.1.1.2. Medición de Anticuerpos

Los anticuerpos maternos disminuyen de manera progresiva hasta que la tasa protectora contra el virus es insuficiente, cosa que ocurre de la quinta a la decimoquinta semana después del nacimiento. Los cachorros no responden a la vacunación si poseen anticuerpos de origen

materno por lo menos en una tasa de 1/80 unidades inhibitorias de la hemoaglutinación. Dicha tasa es la necesaria para evitar la enfermedad. Cuando la tasa de anticuerpos es menor de 1/80 y por lo tanto el animal es susceptible de contraer la enfermedad, pero todavía conserva niveles de anticuerpos mayores de 1/50, esos anticuerpos pueden ocasionar interferencia con antígenos vacunales y por lo tanto no responderá a la vacunación. (Gutiérrez, 2012, p. 274)

Los niveles bajos y no protectores de anticuerpos maternos pueden interferir en la eficacia de algunas vacunas vivas modificadas, en muchos cachorros esos niveles críticos persisten hasta las ocho o doce semanas de edad, pero en otros casos la interferencia con la vacunación continúa hasta las 18 semanas de vida. (Quinn, et al., 2008, p. 432)

Si no existe la decisión de hacer una medición del título de anticuerpos, la primovacunación para parvovirus puede estar indicada a los dos meses de vida para la mayoría de los animales, considerando que las madres que han sido vacunadas con periodicidad transmiten suficientes anticuerpos a los cachorros y hasta esa edad han descendido a niveles no protectores. No obstante, la vacunación podría empezar antes si se considera que los cachorros no ingirieron calostro o la madre no estaba vacunada. (Gutiérrez, 2012, p.275)

La principal causa de fallas en la vacunación contra Parvovirus continúa siendo la presencia de anticuerpos maternos en cachorros jóvenes, los cuales neutralizarán al antígeno de la vacuna, antes que éste pueda replicarse en las células del animal y disparar la respuesta inmune. (Mauro, 2015, p.5)

2.20. RESUMEN DEL ESTADO DEL ARTE DEL ESTUDIO DEL PROBLEMA

La detección de antígeno fecal de parvovirus en heces es una prueba rápida, confiable para el diagnóstico en vivo de la enfermedad. Se debe tomar en cuenta que en los primeros 3-4 días post infección puede dar falsos negativos ya que no se está dando la excreción del virus. El pico de excreción se da entre los días 7 y 10, facilitando el diagnóstico de la

enfermedad. Aunque se tenga el diagnóstico definitivo se deben hacer frecuentemente hemogramas para monitorear la respuesta del paciente. (Diagnóstico Albeitar, 2011)

En la revisión de investigaciones realizadas acerca del Diagnóstico de Parvovirus Canino todas coinciden con el diagnóstico mediante pruebas rápidas en heces.

Tandazo (2015) indica que: realizó su investigación mediante la Prueba rápida (CPV/CCV Ag de Anigen) al igual que, Jiménez (2012) y Arias (2010), estos autores solamente utilizaron las heces del canino, para realizar una prueba cualitativa que nos indica si el canino es positivo o negativo a parvovirus, cuyos resultados les sirvieron para determinar la prevalencia del virus en las ciudades donde fueron realizadas cada una de las investigaciones.

Aldaz (2014) en su Tesis para obtener su Maestría realiza el mismo método para detección de parvovirus que se va a utilizar en la realización de la presente investigación, es decir se realizará un diagnóstico mediante una prueba rápida en este caso (CPV Ag Test Kit) para saber si el canino es positivo o negativo al virus y posteriormente se realizará la prueba de ELISA cuantitativo (Ingezim PARVOVIRUS IgM) para medir los anticuerpos de los mismos caninos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES FÍSICOS

Tabla 1. *Materiales de campo*

Descripción	Cantidad	Unidades de medida
Filipina	1	Unidad
Mandil	1	Unidad
Cubrebocas	1	Caja
Guantes de examinación	1	Caja
Torniquete	1	Unidad
Jeringas de 5cc	1	Caja
Jeringas de 3cc	1	Caja
Centrífuga	1	Unidad
Lector ELISA	1	Unidad
Tubos eppendorf	62	Unidad
Tubos vacutainer 5ml	100	Unidad
Máquina rasuradora	1	Unidad
Algodón	2	Paquete
Bozal	2	Unidad
Estetoscopio	1	Unidad
Termómetro	1	Unidad
Hojas de historia clínica	65	Unidad
Bolígrafo	2	Unidad

3.2. MATERIALES QUÍMICOS

Tabla 2. *Materiales Químicos*

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD
Alcohol Antiséptico	Poma 180ml	3
Test Anigen Rapid CPV Ag	Unidad	62
Kit INGEZIM PARVOVIRUS IGM	Kit	1

3.3. MATERIALES BIOLÓGICOS

Tabla 3. *Materiales Biológicos*

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD
Animal (perros)	Unidad	62
Personas	Unidad	1

3.4. MÉTODOS

El enfoque metodológico que se utilizó en la presente investigación fue experimental y comparativa realizada con 62 muestras de caninos.

3.4.1. Selección de los animales

Los sesenta y dos caninos utilizados para el estudio fueron seleccionados de acuerdo a la signología clínica de la enfermedad, es decir se tomó en cuenta a caninos con edades comprendidas entre las cuatro y cuarenta y ocho semanas de edad que presentaron síntomas compatibles con parvovirus canino.

3.4.2. Toma de constantes fisiológicas

Se coloca al canino en la mesa de consulta externa y se procede a tomar las constantes fisiológicas y realizamos la anamnesis.

3.4.3. Realización de Test rápido en heces

El kit de test rápido Anigen para CPV Ag es un inmunoensayo para la detección cualitativa de antígeno de Parvovirus canino en heces caninas. El kit de test rápido Anigen para CPV Ag presenta la palabra “T” y “C” como línea del test y línea de control, en la superficie del dispositivo. Ambas, la línea de prueba y la línea de control no son visibles en la ventana de resultados antes de aplicar las muestras. (Bionete, 2013)

3.4.3.1. Procedimiento del Test

- 1) Recolectar las muestras de heces caninas usando un hisopo.
- 2) Insertar el hisopo en el tubo para muestras que contiene 1 ml de diluyente de la prueba.
- 3) Mezclar la muestra del hisopo con el diluyente de la prueba en el pozo de extracción.
- 4) Remover el dispositivo de prueba de las bolsas de papel aluminio y colóquelo en una superficie plana y seca.
- 5) Usando el gotero desechable provisto, recoger las muestras del tubo de muestra donde se extrajeron y se mezclaron.
- 6) Agregar cuatro (4) gotas en el orificio de la muestra usando el gotero desechable. El diluyente mezclado de la prueba debe agregarse con exactitud, de manera suave, gota a gota.
- 7) Al inicio de la prueba, se apreciará un color purpura que se desplaza por la ventana de resultados en el centro del dispositivo de la prueba. Si la migración no aparece después de 1 minuto, agregar una gota más del diluyente mezclado de la prueba en el pozo de muestra.
- 8) Para mejores resultados. Realice el test en 5 muestras de heces diarreicas en el criadero.
- 9) Interpretar los resultados del test en 5-10 minutos. No los interprete después de 20 minutos.

Figura 4. Procedimiento de la prueba



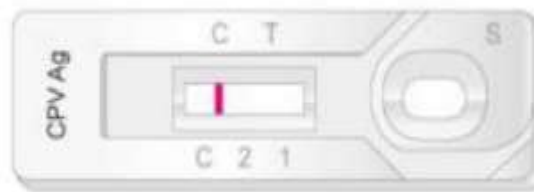
Fuente. (Bionote, 2013)

3.4.3.2. Interpretación de los resultados

1) Resultado Negativo

La presencia de solo una banda en la ventana de resultados indica un resultado negativo.

Figura 5. Resultado negativo

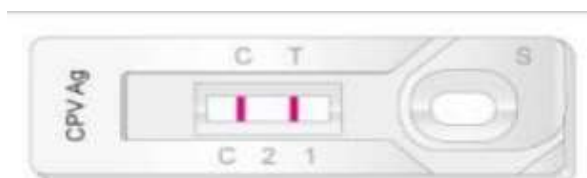


Fuente: (Bionote, 2013)

2) Resultado Positivo

La presencia de dos bandas de color ("T" y "C") en la ventana de resultados, sin importar cual aparezca primero, indica un resultado positivo.

Figura 6. Resultado positivo



Fuente. (Bionote, 2013)

3.4.4. Extracción de la muestra de sangre

3.4.4.1. Preparación de la aguja y la jeringa

Cuando se procede a extraer muestras de sangre con jeringas se debe cuidar que no se haga un vacío violento, se debe utilizar un calibre de aguja adecuada a la especie y tamaño del animal, entre las agujas adecuados para caninos son las del calibre 20, 21 y 22 (Núñez y Bouda, 2007, p. 13).

La aguja y jeringa deben ser estériles y estar secas, el bisel de la aguja debe quedar hacia arriba, en línea con la graduación de la jeringa para poder ver la cantidad de sangre obtenida (Juste y Carretón, 2015, p. 23).

3.4.4.2. Elección de la vena

La yugular es la mejor elección, pero también se puede utilizar la cefálica y safena lateral en perros y gatos. Se debe observar la vena bajo la piel o sentirla claramente y estabilizarla antes de introducir la aguja (Juste y Carretón, 2015, p. 23).

Se procede a tomar 1 ml de sangre la cual es colocada con mucho cuidado en un tubo estéril sin anticoagulante.

3.4.4.3. Obtención de suero

Se obtiene tras la coagulación de la sangre y retracción del coágulo. Se recomienda dejar de 1 a 2 horas el tubo sin anticoagulante a temperatura ambiente para que forme el coágulo de sangre y a continuación se despega el coágulo de las paredes y se centrifuga a 3000 rpm durante 10 minutos. (Juste y Carretón, 2015, p. 27)

3.4.4.4. Conservación del suero

Se pueden refrigerar a 4°C un máximo de 48 horas o congelar a -20 °C durante largos períodos de tiempo. Cuando hayan sido refrigeradas o congeladas se devolverán lentamente a la temperatura ambiente adecuada (Juste y Carretón, 2015, p. 27).

Para la realización del presente trabajo experimental se utilizó 1 ml de suero sanguíneo de cada paciente el cual se congeló para su posterior análisis.

3.4.5. Medición de anticuerpos en el suero de los caninos

Una vez obtenidos los sueros sanguíneos de los sesenta y dos caninos, se procede a realizar la prueba Elisa cuantitativo para lo cual se realiza el procedimiento indicado en el Kit Ingezim Parvovirus IgM de INGENASA detallado a continuación:

3.4.5.1. Fundamento técnico del Kit

El kit se basa en la técnica del inmunoensayo enzimático de captura. En caso de infección como primo-vacunación, existe una alta tasa de anticuerpos IgM frente al Virus del parvovirus canino. Este tipo de anticuerpos son detectados en este ensayo, las placas se suministran tapizadas con un anticuerpo monoclonal (Acm) específico de IgM de perro.

En cada pocillo se dispensan los sueros problema a valorar. Los anticuerpos IgM presentes en el suero serán capturados por el Acm de la placa.

Tras realizar los lavados para eliminar el material no unido, se añade el antígeno viral recombinante que quedará unido al pocillo solo si el suero contenía IgM específicas del parvovirus canino. Tras sucesivos lavados para eliminar el material no adherido, podrá demostrarse la presencia de este antígeno mediante la adición de un Acm conjugado específico del parvovirus marcado con peroxidasa.

Tras la adición del sustrato adecuado, los pocillos en los que se han ensayado sueros con anticuerpos IgM específicos presentarán una reacción coloreada, proporcional al título o nivel de anticuerpos, mientras que en los pocillos donde se hayan ensayado sueros negativos no aparecerá reacción coloreada.

3.4.5.2. Información sobre el modo de realizar los lavados

Los lavados se pueden realizar mediante un lavado automático de placas o mediante una micropipeta que permita dispensar la cantidad de 300 μ l por pocillo. Tras las incubaciones, realizar los lavados siguiendo las siguientes instrucciones:

- Se debe eliminar el contenido de la placa volcándola bruscamente para evitar el intercambio de fluidos entre los pocillos.
- Distribuir unos 300 μ l de solución de lavado por pocillo
- Agitar delicadamente la placa evitando el intercambio de material entre pocillos.
- Volcar la placa bruscamente para vaciar su contenido.
- Repetir el procedimiento las veces que esté indicado en el procedimiento.
- Antes de eliminar el contenido del último lavado, asegurarse de tener preparado el reactivo a utilizar inmediatamente. No debe mantenerse la placa en seco.
- Tras el último lavado, sacudir la placa boca abajo sobre un papel de filtro absorbente.

3.4.5.3. Preparación de las muestras

Para el ensayo de los sueros, se realiza la dilución 1/100 de los mismos. Para el ensayo se utilizaron 62 tubos de ensayo estériles en los cuales diluyeron 5 μ l de cada muestra de suero en 500 μ l del diluyente

3.4.5.4. Preparación de reactivos

- Solución de lavado:

Disolver una parte de solución concentrada en 9 partes de agua destilada. Una vez preparada la solución, permanece estable mantenida entre +2°C y +8°C.

Se disolvió 2000 μ l de solución de lavado en 18 ml de agua destilada

- Antígeno:

Antes de añadir al pocillo diluir 1/10 en el diluyente suministrado (1.1 ml del antígeno con 10 ml de diluyente es suficiente para una placa y para una tira de 8 pocillos diluir 0.1 ml de antígeno con 0.9 ml de diluyente).

Para el ensayo se utilizaron 8 tiras de 8 pocillos por lo cual se diluyó 0.8 ml de antígeno con 7.2 ml de diluyente

- Conjugado

Hacer una dilución 1/100 en diluyente. Se recomienda diluir únicamente el volumen que vaya a ser utilizado ya que la solución sobrante ha de ser desechada (110 µl de conjugado en 11 ml de diluyente es suficiente para una placa, para una tira de 8 pocillos se usa 10 µl de conjugado en 1 ml de diluyente).

El conjugado se preparó para 8 tiras de 8 pocillos, se utilizó 80 µl de conjugado en 8 ml de diluyente.

- Controles

Vienen listos para usar. NO DILUIR

3.4.5.5. Procedimiento

1. Sacar del refrigerador los componentes del kit (excepto conjugado y antígeno) y equilibrar a temperatura ambiente antes de empezar el ensayo.
2. Añadir 100 µl de cada muestra por pocillo, preparada según indicaciones previas. Añadir 100 µl de los controles sin diluir. Cubrir e incubar 15 minutos a 37°C.
3. Lavar 4 veces según instrucciones anteriores
4. Añadir 100 µl del antígeno preparado según indicaciones previas. Cubrir e incubar 15 minutos a 37°C

5. Lavar 4 veces según procedimiento indicado.
6. Añadir 100 μ l de conjugado diluido como se ha indicado en cada pocillo. Cubrir e incubar 15 minutos a 37°C.
7. Lavar 4 veces
8. Añadir 100 μ l de sustrato en cada pocillo. Mantener la reacción durante 5 minutos a temperatura ambiente.
9. Añadir 100 μ l de solución de frenado a cada pocillo. Añadirla en el mismo orden en que se dispuso la solución sustrato.
10. Leer inmediatamente a 450 nm de longitud de onda en los 5 minutos siguientes a la adición de la solución de frenado.

3.4.5.6. Lectura e Interpretación de los resultados

La lectura se realizará a una longitud de onda de 450 nm: Como valor de cada muestra y controles se tomará la media aritmética del duplicado.

Validación del kit:

Abs 450nm control positivo > 1

Abs 450nm control negativo < 0.3

En el ensayo obtuvimos un control positivo de 2.54 que es mayor a 1 y un control negativo de 0.05 menor a 0.3 lo que nos confirma la validación del kit.

Interpretación de los resultados:

Con respecto al valor del control positivo, se determinará el siguiente punto de corte:

Cut off = Abs control positivo x 0.25

Obtuvimos un control positivo de $2.54 \times 0.25 = 0.635$

De esta manera obtenemos el punto de corte o cut off de 0.635

Se considerarán:

Muestras negativas: aquellas cuya Abs450 sea $<$ al cut off

Muestras positivas: aquellas cuya Abs450 sea $>$ al cut off

3.5. Diseño estadístico

El análisis estadístico de la presente investigación es descriptivo, fundamentada en el ordenamiento de la información obtenida para representarla en tablas y gráficos.

3.5.1. Variable independiente: Identificación de la signología clínica de parvovirus

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Mediante la observación de los signos y síntomas se puede obtener un diagnóstico del tipo de enfermedad presente en el animal	Caninos	Sexo	Machos
		Edad	Hembras
		Porcentaje de Deshidratación	Semanas
		Número de vómitos	Porcentaje
		Número de diarreas	Número
		Color de la diarrea	Número
			Marrón
		Amarilla	

3.5.2. Variable dependiente:

Medición de Anticuerpos IgM mediante Elisa cualitativo y cuantitativo

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Realización de ELISA cualitativo para diagnóstico de parvovirus	Muestras de heces	Volumen de heces	Miligramo
Medición de anticuerpos IgM contra parvovirus	Muestra de sangre		Mililitros
	Medición de Anticuerpos	Volumen de sangre Suero sanguíneo	Microlitros

3.6. Población y Muestra

Para el estudio se utilizaron sesenta y dos caninos con una edad comprendida entre las cuatro y cuarenta y ocho semanas de edad con signos y síntomas de la enfermedad. Las muestras fueron obtenidas de clínicas veterinarias de la Ciudad de Cuenca entre ellas: Clínica Veterinaria AUSTROVET, Clínica Veterinaria RECUVET, Clínica Veterinaria Solidaria, Clínica Veterinaria Santa Bárbara, Clínica Veterinaria CLINICAN.

Del total de los 62 caninos muestreados, 38 fueron machos y 24 hembras

3.7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Para la realización de este estudio se tuvo presente siempre brindar bienestar a los animales y actuar con ética. Se empleó los medios de sujeción adecuados para no causar estrés ni miedo en los animales. Para la realización del test en heces y la extracción de sangre se procedió de una manera rápida y adecuada siempre teniendo en cuenta no causar daño a los caninos.

Cada persona tiene la responsabilidad de desarrollar su propia madurez bioética a lo largo de toda su vida. Podríamos definir la madurez bioética como la capacidad de calibrar los beneficios y los riesgos de cada elección ética, tomando en cuenta a las partes involucradas y las consecuencias de nuestras acciones. (Capó, 2005, p. 33)

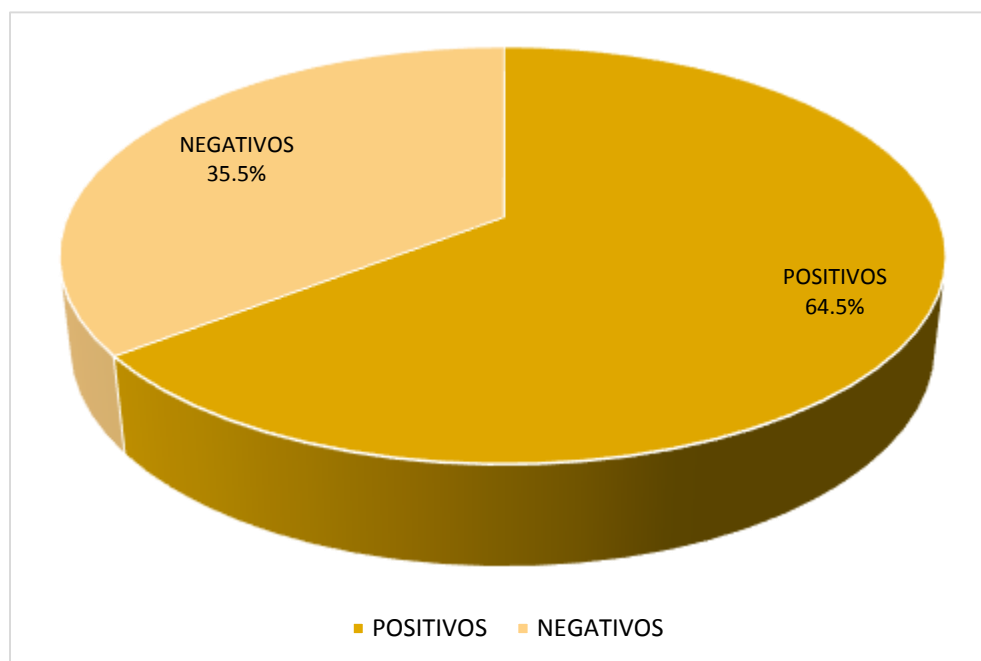
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Resultados obtenidos en la prueba de ELISA cualitativa

Tabla 4. *Porcentaje de caninos positivos y negativos en la prueba ELISA cualitativa*

Resultados	Casos	Porcentaje
Positivos	40	64,5 %
Negativos	22	35,5 %
Total	62	100 %

Figura 7. Porcentaje de caninos positivos y negativos



En la tabla 4. y Fig.7 se observa un total de 62 caninos muestreados de los cuales 40 muestras resultaron positivas a ELISA cualitativa, correspondiente a 64.5% y 22 muestras negativas al Test lo que corresponde al 35.5%, estos resultados se asemejan a los obtenidos por Vascones y López (2008) “quienes obtuvieron un 61% de casos positivos y los obtenidos por

Pauta, (2012) “quien en su estudio realizado en 28 caninos obtuvo 71% de caninos positivos y 29% de caninos negativos” ambos autores utilizaron las pruebas rápidas para el diagnóstico de parvovirus canino.

Tandazo (2015) indica que: “obtuvo un 19% de casos positivos mediante los test rápidos en la ciudad de Santa Rosa, Provincia de El Oro de un total de 100 canes investigados, resultados no concuerdan con los obtenidos en este trabajo experimental”.

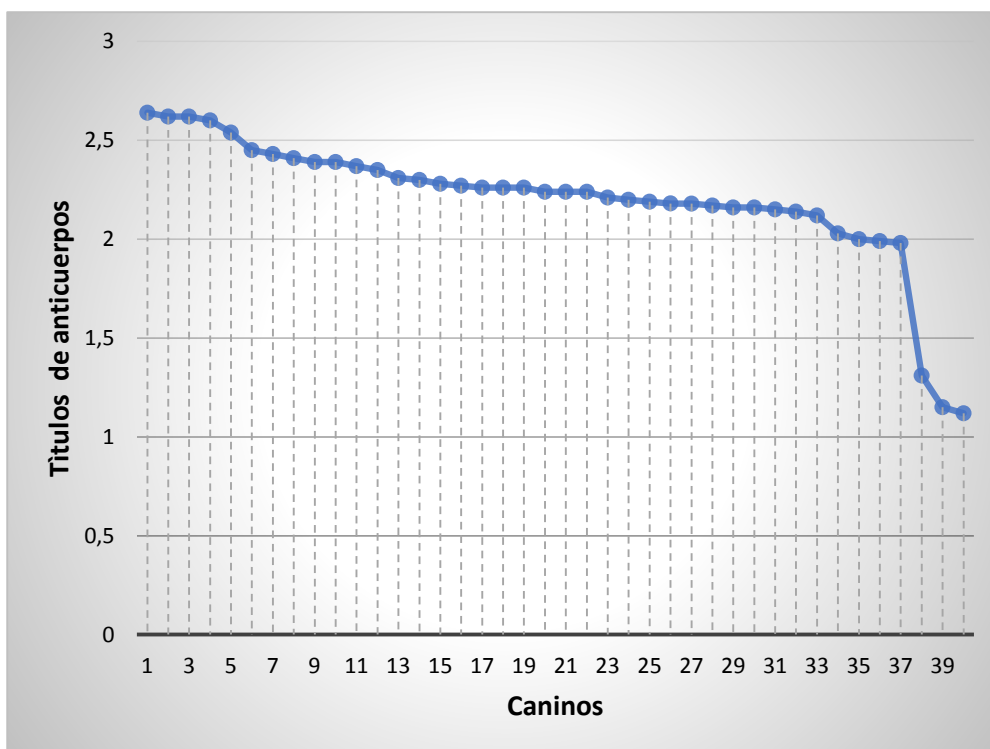
Ariza, Fuentes, Vera, Villamil, y Ramírez (2005) “en su estudio realizado en Colombia en un total de 66 caninos, obtuvieron 31,81% de casos positivos y 68,19% de casos negativos mediante la técnica ELISA comercial o test rápidos”, los resultados descritos por este autor no coinciden con el presente estudio.

4.2. Resultados obtenidos en la prueba ELISA cuantitativa

Tabla 5. *Resultados obtenidos en la prueba ELISA cuantitativa*

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	2.54	1.12	0.078	2.20	2.60	0.23	2.39	0.30
B	0.053	0.19	2.31	0.02	2.39	2.24	2.43	1.31
C	2.28	0.01	0.25	0.03	2.27	2.19	2.41	2.62
D	2.26	0	2.14	0.01	2.15	2.03	2.12	2.35
E	1.15	0.13	2.37	1.99	2.16	0.54	2.18	2.64
F	0.13	1.98	2.18	2.0	0.07	2.26	0.11	2.62
G	0.38	0.11	0.06	0.04	0.59	2.17	2.16	2.45
H	0.32	0.55	2.21	2.24	2.26	2.30	2.24	2.54

Figura 8. Títulos de anticuerpos en caninos positivos a parvovirus

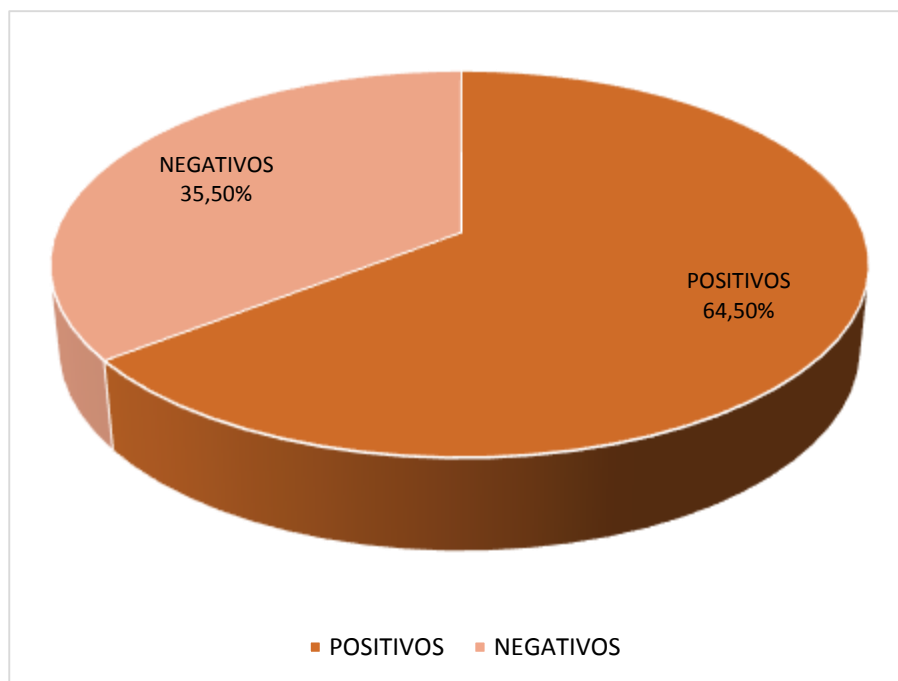


En la tabla 5 y figura 8 se muestran los resultados de la prueba de ELISA cuantitativa, en la cual se detalla la cantidad de anticuerpos presentes en los 40 caninos positivos como respuesta de su sistema inmunitario a la enfermedad, detallándose como título más alto 2.64 y el más bajo 1.12 tomando como referencia el punto de corte obtenido (**0.635**).

Tabla 6. Porcentaje de caninos positivos y negativos en la prueba ELISA cuantitativa

Punto de corte (0.635)	Lectura	Casos	Porcentaje (%)
≥ 0.635	Positivo	40	64,5
≤ 0.635	Negativos	22	35,5
Total		62	100

Figura 9. Porcentaje de caninos positivos y negativos en la prueba ELISA cuantitativo



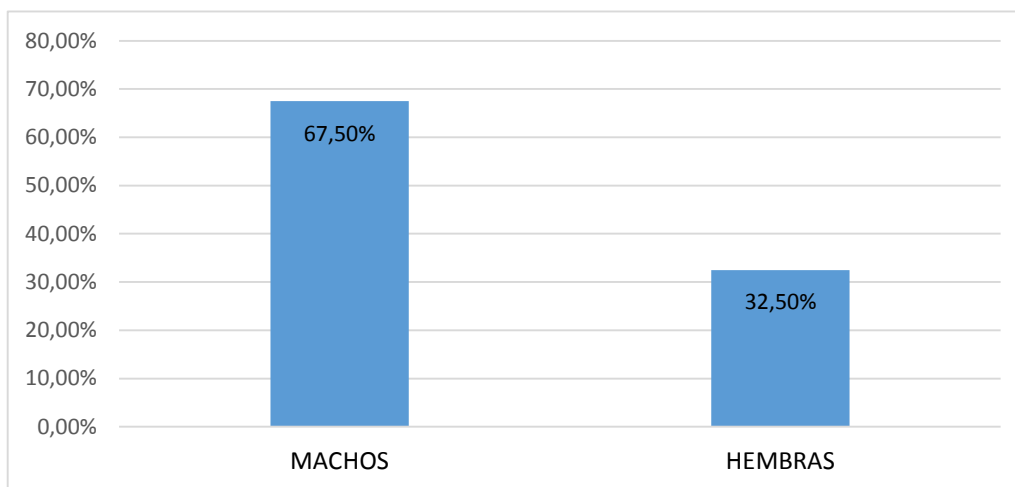
En la Tabla 6 y Figura 9, se determina el número de caninos positivos y negativos, se toma como referencia el punto de corte (0.635), obtenido después de la realización del ELISA cuantitativo. Los resultados mayores o iguales a este punto de corte son positivos y los que estén por debajo del punto de corte son negativos, de los cuales 40 caninos fueron positivos y 22 negativos lo que corresponde al 64.5% y 35.5% respectivamente.

4.3. Prevalencia de caninos positivos a parvovirus de acuerdo al sexo

Tabla 7. Prevalencia de acuerdo al sexo

Sexo	Casos	Porcentaje (%)
Machos	27	67,5
Hembras	13	32,5
Total	40	100

Figura 10. Prevalencia de parvovirus de acuerdo al sexo



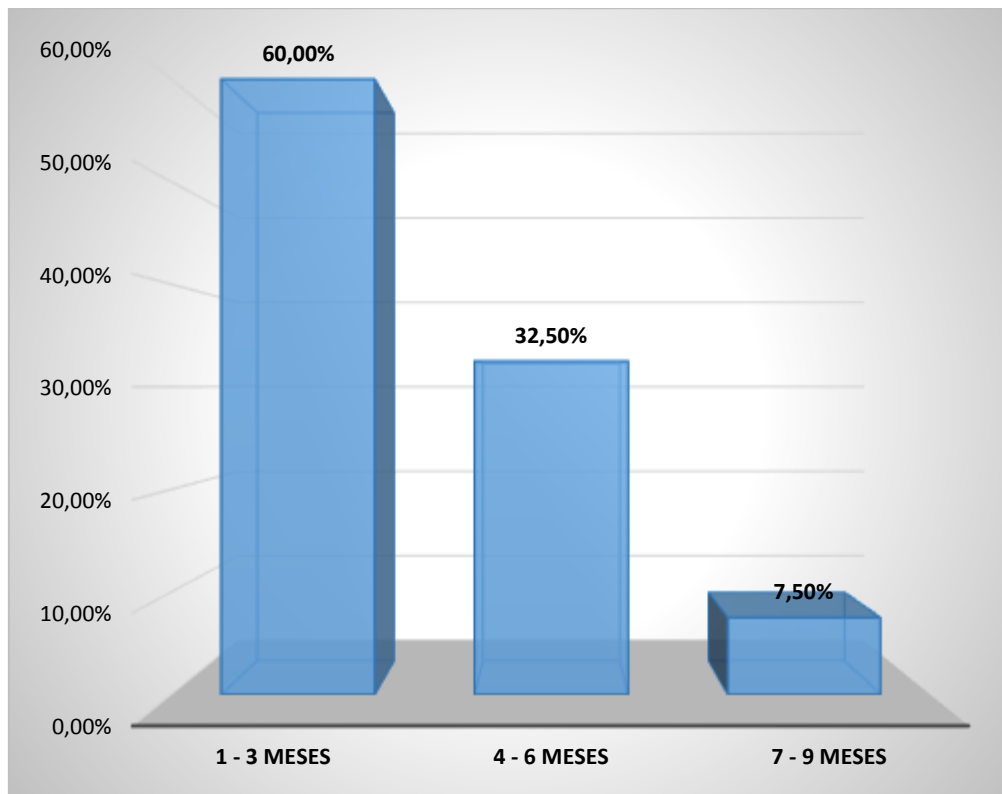
En la Tabla 7 y figura 10 observamos mayor prevalencia de parvovirus en caninos machos con 27 casos correspondientes a 67,5% y 13 hembras que representan el 32.5%, mientras que Pauta (2012) en su investigación realizada en la ciudad de Loja obtuvo más casos positivos de parvovirus en hembras caninas con un porcentaje de 55%, por lo que se puede señalar que no hay predisposición por hembras o machos.

4.4. Prevalencia de casos positivos de acuerdo a la edad

Tabla 8. Prevalencia de acuerdo a la edad

Edad (meses)	Casos	Porcentaje (%)
1-3	24	60
4-6	13	32.5
7-9	3	7.5
10-12	0	0
Total	40	100

Figura 11. Prevalencia de parvovirus de acuerdo a la edad



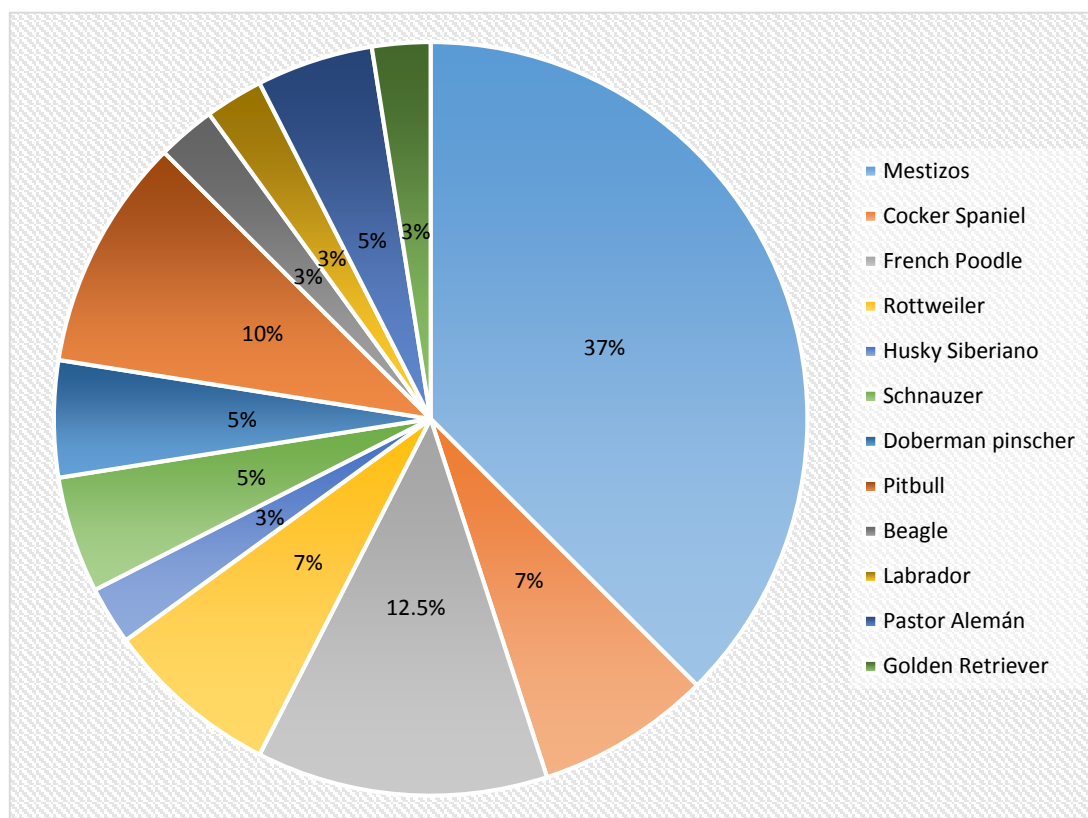
De acuerdo a la tabla 8 y la figura 11, la prevalencia de parvovirus es mayor en caninos con edades comprendidas entre 1 a 3 meses con 24 casos positivos que representa un porcentaje del 60%, seguido de caninos con edades entre 4 a 6 meses con un 32,5 % estos resultados concuerdan con Pauta, 2012 el que “detalla mayor prevalencia de la enfermedad en cachorros de dos meses (20%), tres meses (25%) y cuatro meses (40%)”. Estos resultados concuerdan con la literatura investigada la cual indica que los cachorros de entre 1 a 4 meses son los más susceptibles a contraer la enfermedad debido a la pérdida de la inmunidad materna y debido a la patogenicidad del virus que infecta mayormente células en división.

4.5. Prevalencia de parvovirus de acuerdo a la raza

Tabla 9. *Prevalencia de acuerdo a la raza*

Raza	Casos Positivos	Porcentaje
Mestiza	15	37,50
Cocker Spaniel	3	7,50
French Poodle	5	12,50
Rottweiler	3	7,50
Husky Siberiano	1	2,50
Schnauzer	2	5,00
Doberman Pinscher	2	5,00
Pitbull	4	10,00
Beagle	1	2,50
Labrador	1	2,50
Pastor Alemán	2	5,00
Golden Retriever	1	2,50
Total	40	100

Figura 12. Prevalencia de parvovirus canino de acuerdo a la raza



Según la tabla número 9 y figura 12 la raza con mayor prevalencia de parvovirus canino es la Mestiza con 15 casos positivos correspondiente al 37,5 %, dicho resultado concuerda con Tandazo, 2015 “cuyos resultados fueron un 73,7 % de positivos en la raza Mestiza” y Pauta, (2012) “obtuvo un 40% de casos positivos para la misma raza”. La mayor prevalencia para la raza mestiza puede deberse a que no existe conciencia suficiente por parte de los propietarios para llevar un plan de vacunación y desparasitación completo para sus mascotas.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

De acuerdo a los datos obtenidos en el trabajo experimental se concluye que mediante el diagnóstico de parvovirus canino con la técnica de ELISA cualitativa o también llamados test rápidos se diagnosticaron 40 casos positivos siendo los cachorros de 1 a 3 meses los más afectados, mayor número de machos positivos ya que fueron muestreados más machos que hembras y mayor prevalencia en la raza mestiza.

En la técnica ELISA cuantitativa se obtienen 40 caninos positivos y 22 negativos de acuerdo a los títulos de anticuerpos IgM que presentaron los caninos en estudio, existió mayor número de machos positivos y la raza mestiza resultó la más afectada.

Se concluye que al realizar el diagnóstico de parvovirus canino mediante las dos técnicas los resultados coincidieron, por lo que se puede optar por realizar el test rápido o ELISA cualitativo como primera elección y el ELISA cuantitativo posteriormente para obtener información sobre la respuesta inmunológica de nuestro paciente contra el virus.

De acuerdo a lo expuesto anteriormente la alta prevalencia de parvovirus canino en cachorros con edades entre 1 y 3 meses puede deberse a que su sistema inmunológico aún no está desarrollado en su totalidad, no han recibido las vacunas correspondientes o si las han recibido su sistema inmune no ha respondido correctamente a las mismas, el sexo con mayor número de casos positivos a la enfermedad fueron los machos lo que no se considera relevante pues el virus contagia indistintamente del sexo. La raza más afectada fue la mestiza concluyendo que puede deberse a la falta de interés por mantener un plan de vacunación adecuado en esta raza y a la falsa creencia de que esta raza es inmune ante cualquier enfermedad.

5.2. Recomendaciones

Al ser el parvovirus canino una enfermedad de alta mortalidad se recomienda a los propietarios la visita al Médico Veterinario para que sus mascotas reciban un adecuado plan de vacunación.

Las hembras que estén destinadas a la reproducción deben tener su plan de vacunación al día, de esta manera transmitirán mayor cantidad de anticuerpos maternos a sus cachorros y obtendrán una mejor inmunidad.

La prueba de ELISA cuantitativa mide anticuerpos IgM en perros enfermos y primovacunados por lo cual se recomienda realizar la prueba días posteriores a la vacunación de los caninos para verificar si el sistema inmunológico está respondiendo correctamente a la vacunación mediante la medición de títulos de anticuerpos.

En presentes estudios se recomienda realizar la medición de anticuerpos IgG contra parvovirus mediante la técnica ELISA cuantitativa en cachorros que van a recibir su primera vacuna, de esta manera obtendríamos información sobre la cantidad de anticuerpos que han sido transmitidos a través del calostro, así evitaríamos fallas vacunales por interferencia de anticuerpos maternos.

6. Referencias Bibliográficas

Agut, A., Vicario, F., Díaz, S., Lloret, A., Luján, A., Noli, C., y Tabar, M. (2016). *Manual clínico de Medicina Interna en Pequeños Animales II*. Madrid, España: 5m Publishing.

Aldaz, J. (2014). *Comportamiento clínico epidemiológico de la parvovirus canina en la Provincia de Bolívar*. Tesis Maestría. Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas. Santa Clara, Bolívar, Ecuador.

Arenas, C., Cortés, C., y Del Castillo, N. (2009). *Procedimientos en Medicina de Urgencias para el clínico de pequeños animales*. Malaga, España: Multimédica.

Arias, A. (2010). *Diagnóstico de parvovirus canino en la ciudad de Pasaje por la prueba de Elisa*. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Machala. Ecuador.

Ariza, S., Fuentes, D., Vera, V. J., Villamil, L., y Ramírez, G. (2005). Aglutinación en látex, elisa y hemoaglutinación: alternativas para el diagnóstico de la parvovirus canina en heces. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 52(1), 5-11.

Aspinall, V. (2014). *Manual completo de la Enfermería Veterinaria*. Badalona, España: Paidotribo.

Bermeo, H. (2012). *DIPECHO VII “IMPLEMENTACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE ANÁLISIS DE VULNERABILIDADES A NIVEL CANTONAL” – CUENCA*. Proyecto. Universidad de Cuenca, Cuenca.

Bionete, I. (23 de Mayo de 2013). *Test de un paso para Antígeno de Parvovirus Canino*.

ANNARDX. Recuperado de:

www.annardx.com/productos/images/productos/veterinaria/pruebas-rapidas/rg1101-anigen-rapid-cpv-ag-20130301193106225.pdf

- Birchard, S., y Sherding, G. (2002). *Manual Clínico de Procedimientos en Pequeñas Especies* (2da ed., Vol. 1). Madrid, España: McGraw-Hill.
- Brusa, C. (2014). “*Compendio de las enfermedades de los caninos y felinos domésticos*”. La Plata, Argentina: Edulp.
- Capó, M. (2005). *Aplicación de la bioética al bienestar y al derecho de los animales*. Madrid, España: Complutense.
- Carballal, G., y Oubiña, R. (2014). *Virología Médica*. Buenos Aires: Corpus.
- Coté, E. (2010). *El consultor en la clínica veterinaria perros y gatos*. Buenos, Aires: Intermédica.
- Cramer, K., Stylianides, E., y Van Vuuren, M. (2011). Efficacy of vaccination at 4 and 6 weeks in the control of canine parvovirus. *Veterinary Microbiology*, 149(1), 126-132. NCBI. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21111542>
- Diagnóstico Albeitar. (12 de Enero de 2011). *Parvovirus Canino: diagnóstico y hallazgos de laboratorio*. Diagnóstico Albeitar. Recuperado de: <http://diagnosticoalbeitar.com/parvovirus-canino-hallazgos-de-laboratorio-y-diagnostico/>
- Díaz , R. C., Correa, J., y Vera , A. V. (2008). “Aspectos moleculares del virus de la parvovirus canina y sus implicaciones en la enfermedad”. *Revista De Medicina Veterinaria*(15), 57-65.
- Durán, F. (2016). *Enfermedades en perros y gatos*. Bogotá, Colombia: Grupo Latino.
- Ettinger, S., y Feldman, E. (2007). *Tratado de medicina interna veterinaria; enfermedades del perro y el gato* (Vol. 1). Barcelona,, España: Elsevier.

- Ezeibe , C., Nwaogu , C., Nwigw, N., Okorafor , N., Eze , I., y Ngene , A. (2010). Aluminium - magnesium silicate inhibits parvovirus and cures infected dogs. *Health*, 1210-1217.
- Feijóo, S., y Gómez, N. (2012). *Clínica médica de animales pequeños I*. Buenos Aires: EUDEBA.
- Fernández, N. (2012). *Manual de Merck para la salud de las mascotas*. Madrid, España: PAIDOTRIBO.
- Flores, R. (1987). Parvovirus Canina y Aspectos de Inmunización. *Ciencias Veterinarias*, 145.
- García, I. (2007). “Manejo Clínico de la Parvovirus canina en urgencias”. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 1(2), 1988-2688.
- Greene, C. (2008). *Enfermedades infecciosas del perro y el gato*. Georgia, Saunders: Intermédica.
- Gutiérrez, J. Á. (2010). *Inmunología veterinaria*. México: MANUAL MODERNO.
- Hoelzer, K., Shackelton, L. A., Parrish, C., y Holmes, E. (2008). Phylogenetic analysis reveals the emergence, evolution and dispersal of carnivore parvoviruses. *J. Gen. Virología*(89), 2280-2289.
- Jimenez, M. *Diagnóstico de Parvovirus canino en las clínica veterinarias de la ciudad de Huaquillas mediante la prueba de Elisa*. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Machala. Ecuador.
- Juste y Carretón. (2015). *Fundamentos de Análisis Clínicos en animales de compañía*: Multimédica.

- Kahn, C. (2007). *Manual Merck de Veterinaria*. Madrid, España: Océano.
- Mauro, L. (2015). Claves para comprender a la Parvovirus Canina producida por la variante CPV-2c. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(2), 1-10.
- Miriakshi, S., y Posada, G. (2008). Rapid sensitive and cost effective method for isolation of viral DNA from fecal samples of dogs. *Veterinary world*, 3(3), 16.
- Morales, M. (2009). *Atlas de hemocitología Veterinaria*. Malaga, España: Servet.
- Nelson, R., y Couto, G. (2005). *Medicina Interna de Animales pequeños*. (3ed. ed.). Buenos Aires: Intermédica.
- Núñez, L., y Bouda, J. (2007). *Patología clínica Veterinaria*. México: UNAM.
- Parham, P. (2005). *Inmunología*. Madrid, España: Médica Panamericana.
- Pauta, C. (2012). “ *Diagnóstico de Parvovirus Canino mediante el método del Rapid Kit CPV en pacientes con signos gastroentéricos atendidos en el Hospital Docente Veterinario Augusto Guerrero*”. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Loja. Ecuador
- Quinn, P., Markey, B., Carter, M., Donnelly, W., y Leonard, F. (2008). *Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias*. Zaragoza, España: Acribia.
- Ramsey, I., y Tennant, B. (2012). “ *Manual de enfermedades infecciosas en pequeños animales*”. Zaragoza, España: Lexus.
- Rojas, O. (2006). “ *Inmunología (de memoria)* ” . México: Médica Panamericana.
- Ruiz de Gopegui, R. (2016). *Manual Práctico: Enfermedades infecciosas caninas*. Madrid, España: Servet.
- Ruiz, A., Cardona, E., y Ducang, A. (2007). Diagnóstico del parvovirus canino -2 por inmunohistoquímica en perros domésticos. *Revista veterinaria de México*, 001, 23-34.

- Schaer, M. (2006). *Medicina clínica del perro y el gato*. Barcelona, España: Masson.
- Singh, P., Destito, G., Schneemann, A., y Manchester, M. (2006). Canine parvovirus-like particles, a novel nanomaterial for tumor targeting. *Canine parvovirus-like particles, a novel nanomaterial for tumor targeting*, 42-11 .
- Stanchi, N. (2010). *Microbiología Veterinaria*. Buenos Aires: Intermédica.
- Tandazo, T. (2015). *Diagnóstico de parvovirus canino mediante la prueba de Elisa, en Veterinarias de la Ciudad de Santa Rosa*. Tesis pregrado. Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador.
- Tizard, I. (2009). *Inmunología Veterinaria*. Madrid, España: Elsevier.
- Torrente, C., y Bosch, L. (2011). *Medicina de urgencia en pequeños animales. Tomo II*. Zaragoza, España: Servet.
- Trigo, F. (2011). *Patología Sistémica Veterinaria*. México: Mc Graw Hill.
- Truyen, U. (2006). Microbiología veterinaria. *ELSEIVER*, 117(1), 9-13.
- Vascones, T., y López, W. (2008). *Diagnóstico de parvovirus canino en cachorros con gastroenteritis en la Ciudad de Machala*. Tesis pregrado. Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador.
- Villiers, E., y Blackwood, L. (2013). *Manual de diagnóstico de Laboratorio en pequeños animales*. Madrid, España: Lexus.
- Willard, M., y Tvedten, H. (2006). *Diagnóstico clínico patológico practico en los pequeños animales*. Buenos Aires, Argentina: Intermedica.

7. Anexos

7.1. Realización de la técnica ELISA cualitativa



Foto 1. Toma de muestra para realización de la prueba ELISA cualitativa

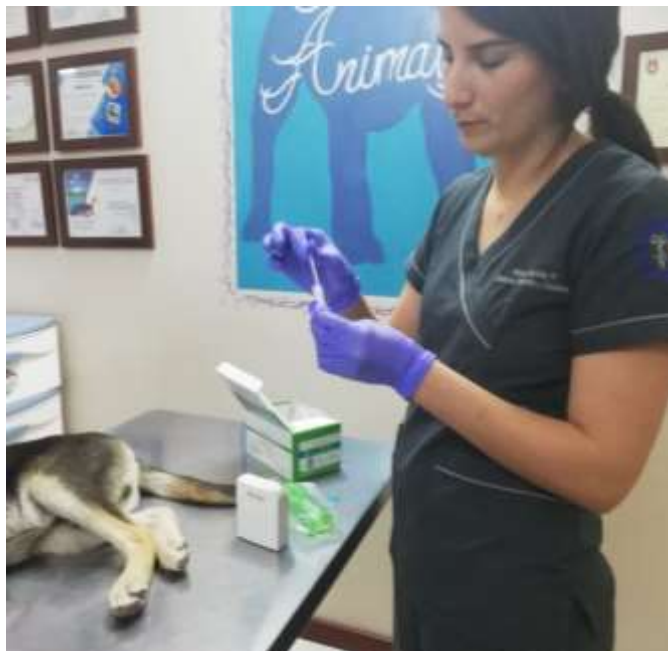


Foto 2. Disolviendo la muestra de heces en el diluyente



Foto 3. Agregando 4 gotas de la muestra disuelta anteriormente



Foto 4. Resultados positivos a parvovirus canino

7.2. Realización de la técnica ELISA cuantitativa

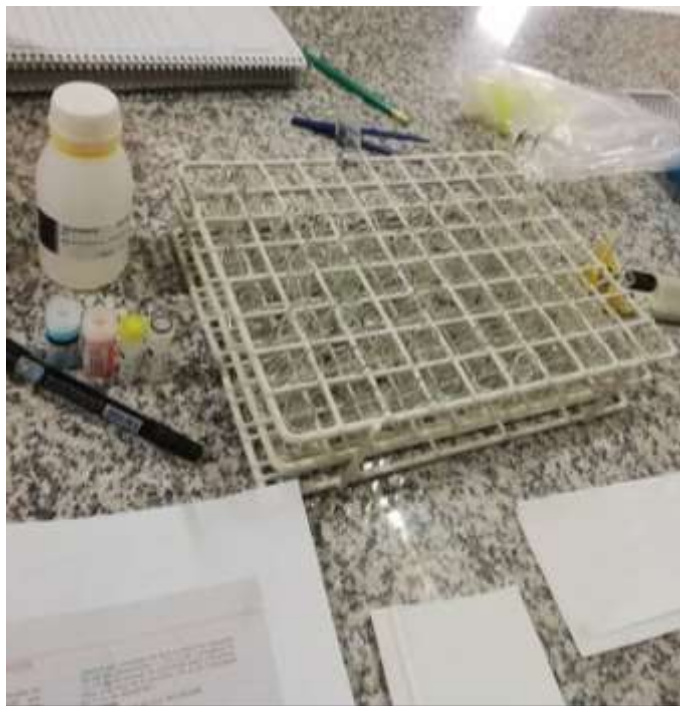


Foto 5. *Componentes del kit*



Foto 6. *Preparación de las muestras*



Foto 7. Preparación del antígeno

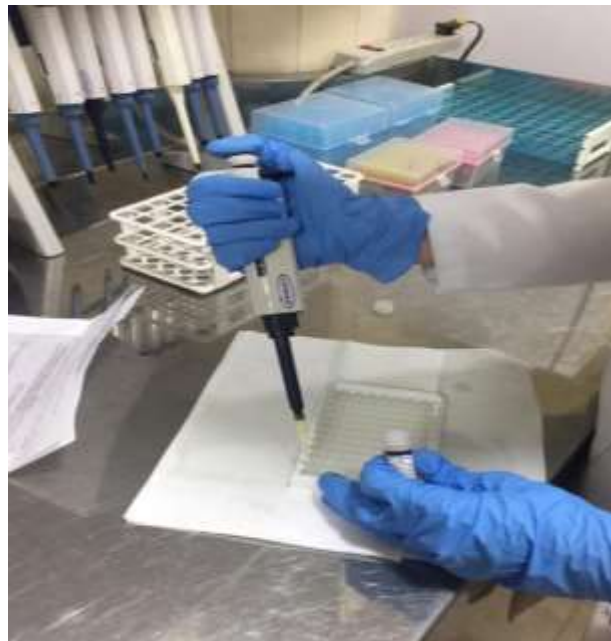


Foto 8. Adición del control positivo y negativo en los pocillos

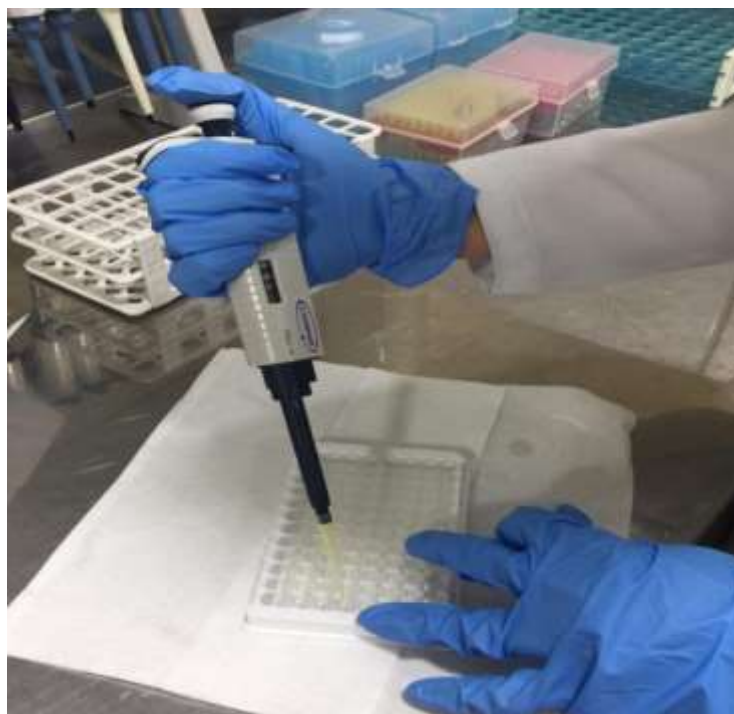


Foto 9. Adición de las muestras previamente preparadas en los pocillos



Foto 10. Incubación a 37°C



Foto 11. *Realización del lavado según indicaciones previas*



Foto 12. *Aplicación de solución de frenado*



Foto 13. Placa lista para la lectura



Foto 14. Colocación de la placa en el Lector de ELISA