

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**Frecuencia de Presentación de Parvovirus y Coronavirus
Canina Diagnosticados por Inmunocromatografía en la ciudad
de Chota – Cajamarca**

TESIS

Para optar el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIO

Presentada por el Bachiller
EDIN ROBERTH ESTELA BENAVIDES

Asesores
Mg. M.V. Marcelino Adolfo Irazábal Léctor
Dr. Giuseppe Martín Reyna Cotrina

Cajamarca – Perú

2017

DEDICATORIA

A mí querido padre Julio Ulises Estela Bernal y mi ejemplar madre María Dilma Benavides Saldaña, quien con mucho sacrificio y dedicación supieron aconsejarme, corregirme, acompañarme y a cumplir cada una de mis metas, agradezco infinitamente de corazón el apoyo sincero para formarme como persona y como profesional.

A mi querida hermana Ana Estela Benavides, por quien siento un cariño grande, le agradezco por todo su apoyo, a mi sobrino Liam Yandiel Cubas Estela, sé perseverante y serás un ejemplo como persona, te Amo.

A mis tíos: Cástulo Adelmo y Esposa, quienes estuvieron en el transcurso de mi carrera acompañándome en los buenos y malos momentos durante mi vida universitaria.

A mi adorable pareja Teresita de Jesús Correa Celiz, quien estuvo apoyándome incondicionalmente en cada desvelo, examen y en cada logro que tuve en mi facultad.

E.R.E.B

AGRADECIMIENTO

Agradecer a Dios, para que esta investigación se realice, por darme salud, vida, paz y amor.

A mi alma mater Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, por haberme formado profesionalmente.

A mis padres que siempre estuvieron pendientes de mí superación.

A mis Asesores: Mg. Adolfo Irazábal Léctor y Dr. Giuseppe Martín Reyna Cotrina, quienes me orientaron para realizar mi trabajo de investigación.

Al Dr. Fernando Coronado León, por su apoyo incondicional para la realización de la tesis.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Veterinarias, quienes me inculcaron sabios valores y enseñanzas.

A mis compañeros y amigos, con quienes compartimos inolvidables momentos, como tradiciones universitarios.

E.R.E.B

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Distrito de Chota - Cajamarca - Perú, en los Consultorios Veterinarios "Dr. ESTELA" y "TAFUR", en los meses de febrero, marzo y abril del 2017, teniendo como objetivo determinar la frecuencia de Parvovirus y de Coronavirus Canina mediante el método diagnóstico de Inmunocromatografía, se usó el Kit comercial de Anigen Rapid, CPV / CCV Ag Test Kit[®], de laboratorios Bionote; para el efecto se utilizó muestras de heces procedentes de 20 caninos con diarrea hemorrágica, diagnosticados clínicamente como probable a Parvovirus o Coronavirus canina. Después de realizada la prueba los resultados fueron: 12 caninos positivos a Parvovirus (60%), 03 caninos positivos a Coronavirus (15%), no encontramos ningún canino positivo a Parvovirus y Coronavirus simultáneamente (0%), 05 caninos del total de muestreados fueron negativos (25%).

Palabras clave: Parvovirus canina, Coronavirus canina, inmunocromatografía.

ABSTRACT

The present investigation was carried out in the District of Chota - Cajamarca - Peru, in the Veterinary Clinics "Dr. ESTELA "and" TAFUR ", in February, March and April of 2017, with the objective of determining the frequency of Parvovirus and Canine Coronavirosis by means of the diagnostic method of Immunochromatography, the Commercial Kit of Anigen Rapid, CPV / CCV Ag Test Kit® from Bionote laboratories; stool samples from 20 canines with hemorrhagic diarrhea, clinically diagnosed as likely to Parvovirus or Canine Coronavirosis, were used for this purpose. After the test the results were: 12 canine positive to Parvovirus (60%), 03 canine positive to Coronavirosis (15%), we did not find any canine positive to Parvovirus and Coronavirosis simultaneously (0%), 05 canines of the total sampled were negative (25%).

Key word: Canine parvovirus, Canine coronavirosis, immunochromatography.

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN 1

OBJETIVOS 3

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO 4

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN 4

2.2. BASES TEÓRICAS 9

2.2.1 PARVOVIROSIS CANINA 9

 Agente Etiológico 9

 Patogenia 10

 Transmisión 12

 Cuadro Clínico 12

 Diagnostico 14

 Patología 16

 Tratamiento 17

 Pronostico y Complicaciones 18

 Prevención 18

2.2.2 CORONAVIROSIS CANINA 19

 Agente Etiológico 20

 Patogenia 20

 Transmisión 21

 Cuadro Clínico 22

 Diagnostico 23

 Tratamiento 24

 Prevención 25

CAPÍTULO III	
MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1 LOCALIZACIÓN	27
3.2 MATERIALES	28
3.2.1 Material Biológico	28
3.2.2 Reactivo	28
3.2.3 Material de Consultorio	28
3.3 METODOLOGÍA	29
3.3.1 Selección de Caninos	29
3.3.2 De la Prueba	29
Principios	29
Recogida y preparación de muestras	30
3.3.3 Procedimiento de la Prueba	30
3.3.4 Interpretación de la Prueba	32
Resultado Negativo	31
Resultado Positivo a CPV y CCV Simultaneo	31
Resultado Positivo a CPV	32
Resultado Positivo a CCV	32
Resultado no valido	33
3.4 MODELO ESTADÍSTICO	33
CAPÍTULO IV	
RESULTADOS	34
CAPÍTULO V	
DISCUSIÓN	37
CAPÍTULO VI	
CONCLUSIONES	39
CAPÍTULO VII	
LISTA DE REFERENCIAS	40
ANEXO	48

ABREVIATURAS

- **CPV:** Parvovirus canino
- **CVC:** Coronavirus canino
- **CCoV:** Coronavirus canino
- **CPV-2:** Parvovirus canino tipo 2
- **CPV-1:** Parvovirus canino tipo 1
- **TGEV:** Virus de la Gastroenteritis Transmisible
- **CECoV:** Coronavirus Entérico Canino
- **CDV:** Distemper Canino
- **CRCoV:** Coronavirus Respiratorio Canino
- **CIV:** Virus de la Influenza Canina
- **IC:** Intervalo de Confianza
- **PCR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La Parvovirus canina es una de las enfermedades infecciosas que más afecta a los caninos y una de las principales causas de muerte. Es altamente contagiosa y en la actualidad ocurre principalmente en cachorros entre el destete y las doce semanas. El Parvovirus canino (CPV) tiene afinidad por las células que se multiplican rápidamente, como las células intestinales, del sistema linfóide, las células mieloproliferativas de la médula ósea (linfopenia e incluso panleucopenia). También puede afectar a las células del miocardio en animales de 3 y 8 semanas. La multiplicación del virus en el epitelio germinal de las criptas intestinales conduce a su destrucción, perdiendo la capacidad de absorción, provoca diarrea hemorrágica. Provoca elevadas pérdidas de proteínas, fluidos e iones a través del tracto digestivo, originando una deshidratación severa e incluso shock hipovolémico. La lesión de la mucosa conduce a la alteración de la barrera gastrointestinal, permitiendo el paso de bacterias y/o endotoxinas a la circulación sistémica (García, 2007).

La Coronaviriosis es considerado como el principal patógeno responsable de la gastroenteritis viral aguda en los cachorros, provocando en algunos casos, alta morbilidad y alta mortalidad, principalmente debido a la capacidad de aprovechar las infecciones por otros agentes. Este virus se distribuye en todo el mundo en la población canina, siendo responsable de muchos brotes en muchos países, especialmente donde hay gran concentración de animales, tales como refugios y perreras (Pinto, 2013). La enteritis causada por el coronavirus canino es una enfermedad altamente contagiosa, de diseminación rápida, sin embargo, los perros de cualquier edad, sexo y raza son susceptibles. El virus se puede excretar en las heces por 2 semanas o más y es transmitido por la vía fecal y oral. Los signos clínicos incluyen: inicio súbito

de diarrea, que puede estar o no precedida de vómito, anorexia, letargo con o sin fiebre (Hoskins, 1998).

Actualmente, no hay información sobre la frecuencia de Parvovirus canina y Coronavirus canina en las clínicas de animales de compañía en la ciudad de Chota, el clínico no realiza métodos de diagnóstico de laboratorio para aplicar un tratamiento adecuado por lo cual diagnostican todos los casos de gastroenteritis hemorrágica como Parvovirus, simplemente por los signos clínicos; sin descartar la probable existencia de Coronavirus; además los cachorros no son vacunados rutinariamente contra parvovirus ni contra coronavirus lo que está provocando la presentación de cuadros de diarrea sanguinolenta por lo que ha sido necesario llevar a cabo la presente investigación, comprendiendo la importancia y así sensibilizar al propietario para el control de estas enfermedades.

En la actualidad se encuentra disponible una prueba de diagnóstico, que tiene el 100% de sensibilidad y el 98,9% de especificidad que permite establecer el diagnóstico definitivo para ambas enfermedades, se trata de la prueba comercial de Anigen Rapid, CPV / CCV Ag Test Kit[®], de laboratorios Bionote, la cual se fundamenta en el método inmunocromatográfico, es una prueba dual de diagnóstico rápido que nos permite detectar y diferenciar simultáneamente el antígeno del CPV y el antígeno del CCV (Seogu-dong *et al.*, 2013).

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia de Parvovirus y de Coronavirus Canina mediante el método diagnóstico de Inmunocromatografía en la ciudad de Chota.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.2.1. Determinar la frecuencia de presentación de Parvovirus canina.

1.2.2. Determinar la frecuencia de presentación de Coronavirus canina.

1.2.3. Determinar la frecuencia de presentación de Parvovirus y Coronavirus canina simultáneamente.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

La prevalencia de la infección por coronavirus canino (CCoV) en Japón, se examinaron muestras fecales de 109 perros con diarrea por CCoV ARN junto con parvovirus canino tipo 2 (CPV-2) de ADN. Las tasas de detección de CCoV y CPV-2 para los perros menores de 1 año fueron 66,3% y 43,8%, mientras que para los perros de 1 año o mayores fueron 6,9% y 10,3%, respectivamente, que fueron significativamente diferentes ($p < 0,0001$ y $p = 0,0003$, respectivamente), no indicando CPV-2 pero CCoV es un importante organismo que causa diarrea en perros jóvenes. Entre los perros CCoV positivo, 65,5% y 72,7% mostraron ser positivas para tipos CCoV I y II, respectivamente, y la tasa de detección simultánea de ambos tipos fue alta en 40,0%. Por otra parte, virus de la gastroenteritis transmisible (TGEV) como CCoV ARN se detectaron a partir de 8 perros. Estos hallazgos indican que el tipo CCoV I y TGEV como CCoV ya están circulando en Japón, aunque no haya informes de que se estén presentado hasta la fecha (Soma *et al.*, 2010).

Se examinó la relación entre el coronavirus respiratorio canino (CRCoV) y el virus de la influenza canina (CIV) de seropositividad en los perros en Corea. Sesenta y dos de 483 muestras (12,8%) fueron positivas a CRCoV por análisis de inmunofluorescencia indirecta (IFA). Diecinueve animales fueron seropositivos para el CIV por ELISA de 385 muestras analizadas. Se detectaron anticuerpos de suero para ambos virus en 6 de los 483 perros incluidos en la muestra, lo que sugiere que estos virus están presentes en perros en Corea. Aunque el papel de CRCoV en traqueobronquitis infecciosa canina no ha sido completamente aclarada,

co-infección con CIV puede empeorar de forma sinérgica los signos clínicos respiratorios y provocar traqueobronquitis canina más severa (Dong-Jun *et al.*, 2010).

En Estados Unidos 100 perros fueron evaluados, 50 con heces normales y 50 con diarrea, procedentes de un refugio Municipal de animales en Florida. Para el efecto, se recolectaron muestras fecales, 24 horas después de la admisión de los animales. Las heces fueron sometidas al análisis por flotación fecal, prueba de antígenos, PCR y microscopía electrónica para enteropatógenos. Se identificaron 13 enteropatógenos. Los perros con diarrea fueron significativamente más propensos a ser infectados con ≥ 1 enteropatógenos (96%) que los perros con heces normales (78%). Sólo *Clostridium perfringens* enterotoxina, un gen fue significativamente más frecuente en los perros con diarrea (64%) que en los perros con heces normales (40%). Otros enteropatógenos identificados en los perros con y sin diarrea incluyen anquilostomas (58% y 48%, respectivamente), *Giardia spp* (22% y 16%, respectivamente), el coronavirus entérico canino (2% y 18%, respectivamente), tricocéfalos (12% y 8%, respectivamente), *Cryptosporidium spp* (12% y 2%, respectivamente), áscaris (8% y 8%, respectivamente), *Salmonella spp* (2% y 6%, respectivamente), *Cystoisospora spp* (2% y 4% , respectivamente), el virus del moquillo canino (8% y 0%, respectivamente), *Dipylidiumcaninum* (2% y 2%, respectivamente), el parvovirus canino (2% y 2%, respectivamente), y el rotavirus (2% y 0%, respectivamente) (Tupler *et al.*, 2012).

En Reino Unido, se realizó un estudio que estuvo dirigido a determinar la prevalencia de la CPV y CECoV en perros que presentaron diarrea grave en los hospitales PDSA Pet Aid. Un total de 355, muestras fueron recogidas de la PDSA entre el 2006 y 2008. Todas las muestras fueron analizadas para CPV usando PCR y para CECoV mediante RT-PCR. La prevalencia de CPV fue del 58% (con un 95% de confianza, IC del 52 a 63%), con alguna evidencia de variación regional. La prevalencia de CECoV fue del 7,9% (con un 95% de confianza, IC 5,1 a 10,7%). El

análisis mostró que los animales sin antecedentes de vacunación fueron más propensos a ser CPV positivo, con mayor efecto en los animales más jóvenes. Animales CPV positivos tenían más probabilidad de presentar depresión o letargo que los casos - CPV negativo. El volumen de la diarrea y la presencia de hemorragia no parecen estar asociados con la probabilidad de detectar CPV. Este estudio muestra que el CPV es un hallazgo frecuente en los perros que acuden a los hospitales PDSA con diarrea severa, y que CECoV es un patógeno menos común, pero aún, potencialmente importante. También confirma que los animales jóvenes y no vacunados parecen estar en mayor riesgo de presentar CPV (Godsall *et al.*, 2010).

Se realizó un estudio retrospectivo a partir de las fichas de ingreso de pacientes provenientes del Hospital Veterinario de la Universidad de Antioquia, para diagnóstico por parte del Laboratorio Clínico y de Serología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la misma Universidad, de Parvovirus y Distemper durante enero del 2011 y enero del 2012. El propósito fue determinar la prevalencia de ambas enfermedades y analizar las variables de edad, sexo, raza y época del año en la ciudad de Medellín. Se tomaron un total de 17 casos para la prueba de Parvovirus y 71 para Distemper, se obtuvo una prevalencia de 20,5% para Distemper y 32,3% para Parvovirus, mayor frecuencia de presentación se encontró en cachorros de 2 y 3 meses. No hubo relación entre sexo, raza y época del año. Se utilizó el kit comercial Anigen Rapid CPV Ag test para Parvovirus canis y Anigen Rapid CDV Ag test para la prueba de Distemper canino (Betancour & Correa, 2012).

Se realizó un estudio que fue realizado en la Universidad de Liverpool – Inglaterra. El Coronavirus entérico (CECoV), fue encontrado en 7/80, 8,8% de caninos con diarrea y en 2/147, 1,4% de controles (sin diarrea), CPV solo se encontró en 4/80, 5% de los cuales 2 murieron posteriormente. El diagnóstico viral se realizó por PCR, también se detectó en el estudio, por otros medios diagnósticos *Campylobacter sp*,

Salmonella sp y parásitos intestinales en los caninos con diarrea (Staviskya *et al.*, 2012).

Se llevó a cabo un estudio en Alemania y consistió en evaluar los virus que se pueden detectar en los perros con diarrea aguda hemorrágica y compararlos con los signos clínicos que se presentan. Con tal fin, se tomaron 935 muestras fecales de perros con diarrea hemorrágica aguda, las que fueron examinadas por microscopía electrónica. Las historias clínicas de estos pacientes se evaluaron retrospectivamente para los parámetros clínicos y de laboratorio. Se detectó la presencia de virus en el 44,2% de los perros que se presentan con diarrea aguda con sangre. La prevalencia más alta correspondió al parvovirus canino (19,9%), seguido por el coronavirus (17,3%), y paramixovirus (13,9%). Más de mil especies de virus se detectaron en el 6,5% de todas las muestras fecales. Los perros positivos al virus fueron significativamente los más jóvenes en comparación con los perros infectados con otros virus entéricos. No se observaron diferencias significativas en la evaluación de sexo, parámetros clínicos, carácter de la diarrea o vómitos entre todos los grupos (Kempf *et al.*, 2010).

En Argentina, la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, se realizó en el Servicio Central de Microscopía Electrónica, un estudio por microscopía electrónica en 100 muestras de heces de perros jóvenes. Se detectaron partículas virales en el 31% de las muestras analizadas, como Parvovirus, Coronavirus canino y otras partículas virales no identificados en el 17%, 7% y el 2% de las muestras, respectivamente. Se encontraron Parvovirus y Coronavirus juntos en el 5% de las muestras. Más de la mitad (58,82%) de las muestras positivas a Parvovirus estuvieron comprendidas en edades entre las 6 semanas y los 6 meses. Se detectó que el 42,85% de las muestras positivas a Coronavirus se encontraron en caninos de entre 6 semanas y 6 meses de edad y un porcentaje similar se encontró en los perros mayores de seis meses de edad. Infecciones duales con Parvo y Coronavirus se observó en el 5% de las muestras. Partículas virales no identificadas fueron

encontradas en dos especímenes. El 80,63% de las muestras que tuvieron partículas virales se obtuvieron de perros con la diarrea (Del Amo *et al.*, 1999).

El parvovirus (CPV) y coronavirus (CCV) canino han sido claramente establecidos como causantes de enteritis y diarrea en perros y gatos. Otros virus, como el rotavirus, astrovirus, adenovirus, paramixovirus, calicivirus y picornavirus han sido también observados en las heces caninas (Hammond & Timoney 1983; Pollock & Carmichael, 1992).

En la ciudad de Lima – Distrito de Comas, se llevó a cabo una investigación, entre los meses de junio a agosto del 2015, tuvo por finalidad diagnosticar y diferenciar simultáneamente el antígeno de Parvovirus y Coronavirus Canino mediante la utilización del método de Inmunocromatografía, empleándose para el efecto la prueba comercial Anigen Rapid, CPV / CCV Ag Test Kit, de laboratorios Bionote; para lo cual se recolectaron muestras de heces procedentes de 20 caninos con diarrea hemorrágica, diagnosticados clínicamente como Parvovirosis canina. Después de realizada la prueba los resultados fueron: siete caninos positivos a Parvovirosis (35%), no encontrándose ningún canino positivo a Coronavirosis (0%), del total de caninos positivos a Parvovirosis 04 fueron machos y 03 hembras; y según la edad, el 71,4% estuvieron entre 0 a 90 días y el 28,6% entre 91 a 150 días (Ramos, 2016).

En el departamento de Cajamarca, se llevó a cabo un estudio que tuvo por finalidad la diferenciación simultánea del antígeno de Parvovirus y del Coronavirus Canino mediante la utilización del método de Inmunocromatografía, utilizándose para el efecto la prueba comercial Anigen, diagnóstico de CPV Ag y CCV A, para lo cual se empleó heces procedentes de 20 caninos con diarrea hemorrágica, diagnosticados clínicamente como que estuvieron padeciendo de Parvovirosis canina, después de realizada la prueba se encontró, 11 caninos positivos solo a parvovirosis (55%), 01 a solo coronavirosis (0,5%) y 02 positivos a

parvovirus y coronavirus a la vez (10%), solo 06 caninos del total de muestreados fueron totalmente negativos (Portocarrero, 2015).

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. PARVOVIRUS CANINO

❖ Agente Etiológico

El virus de la Parvovirus canina, se conoce como CPV-2, pertenece a la familia *Parvoviridae*, es pequeño de 20 nanómetros de diámetro, sin envoltura lipídica, con cápside icosaédrica, posee DNA monocatenario, en sentido negativo (ssDNA). Esta familia está dividida en dos subfamilias, basadas en su rango e hospederos: *Parvovirinae* que afecta a vertebrados y *Densovirinae* que afecta a insectos y artrópodos. Requieren células en división rápida, para su replicación en el núcleo, lo cual forman cuerpos de inclusión intranucleares (Cotmore & Tattercell, 2007). Tras penetrar una célula, el virión pierde sus cubiertas y su genoma compuesto por DNA monocatenario, se convierte en DNA bicatenario; gracias a las DNA polimerasas del núcleo. Después de replicarse, los nuevos viriones son liberados por ruptura de la célula (Quinn, 2011).

El PVC-2 desde que surgió a finales de la década de los 70 sufrió alteraciones genéticas en el perro, con el desarrollo de nuevas cepas. En 1980 la cepa original de PVC-2, evoluciono a tipo PVC-2a y en 1984 apareció una variante denominada PVC-2b; se asociaron estas alteraciones de PVC-2 con una adaptación genética, que permitió a los parvovirus replicarse y propagarse en forma más eficaz en perros susceptibles. Desde la aparición del parvovirus canino en 1978, se ha producido diversas mutaciones

que han afectado al genoma y a la antigenicidad del virus (Denzegrini *et al.*, 2007).

Existen 2 tipos de Parvovirus canino (CPV): El CPV-1 descrito en 1970 y el CPV-2 descrito ya en 1978. Este último por mutaciones genéticas se clasifica actualmente como CPV-2a (1980) y CPV-2b (1984). Estas variantes serían adaptaciones que les permitirían reproducirse y diseminarse más fácilmente además de poseer periodos de incubación más cortos (4 a 5 días) y mayor patogenicidad (Truyen, 2002).

En Estados Unidos y Japón el PVC-2b reemplazó ampliamente las cepas aisladas anteriormente, mientras que en el lejano oriente y Europa predominan tanto la cepa PVC-2a como la 2b. En el 2000 se informó de otra cepa llamada PVC-2c, una adaptación entre el PVC-2 y el virus de la Panleucopenia felina; a pesar de que el PVC- 2c se aisló en leopardos, es probable la infección en perros y gatos domésticos (Decaro *et al.*, 2006).

❖ Patogenia

La patogenia del parvovirus canino, viene determinada por la necesidad de células en división para llevar a cabo la replicación viral, tras la infección de cachorros (1 a 6 meses de vida). El virus puede ser pantropico, infectando una amplia gama de células de diferentes tejidos y órganos (Craig & Greene, 2008). 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 & Posada, 2008). 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 & Nwaogu, 2010).

El virus se replica inicialmente en el tejido linfoide de la faringe y las placas de Peyer, luego se produce una viremia. Después de un periodo de incubación que dura 4 a 6 días, en la fase aguda de la enfermedad se presenta depresión, vómitos y diarreas (Ettinger *et al.*, 2007). En los cachorros, el virus invade las células epiteliales en división activa de las criptas del intestino delgado, la pérdida de células en este tejido conduce a un acortamiento de las vellosidades y la reducción de la capacidad de absorción y digestión; que da paso a la diarrea, lo cual produce una intensa hemorragia en la luz intestinal en los cachorros gravemente afectados (Flores, 2008). El PVC-2 también destruyen los precursores con actividad mitótica de las células linfáticas y leucocitos circulantes. La destrucción de los tejidos linfoides de la mucosa intestinal y los ganglios linfáticos mesentéricos contribuye a una inmunosupresión del animal, lo que permite la proliferación de las bacterias gram negativas como: *Salmonella spp* y *Escherichia coli* o de parásitos oportunistas tal como coccidias, giardias, helmintos y céstodos (Honskins, 2009). La invasión secundaria de los tejidos intestinales dañados puede presentar una edotemia o coagulación intravascular diseminada. La excreción activa del PVC-2 comienza el tercer o cuarto día después de la exposición, en general antes de que se manifiesten signos clínicos, el virus se libera ampliamente en la materia fecal por un máximo de 7 a 10 días (Quinn, 2011).

En la forma miocárdica de la enfermedad, que en la actualidad es rara, los cachorros afectados suelen presentar signos de fallo cardiaco agudo antes de las 6 semanas de edad, algunos cachorros pueden sufrir un fallo cardiaco congestivo meses después de la miocárdica (Honskins, 2009).

❖ Transmisión

El contagio del parvovirus canino, ocurre por contacto fecal-oral y fómites, siendo la primera la más frecuente (Ruiz *et al.*, 2007). Los perros infectados excretan grandes cantidades de virus en sus heces. El número de partículas víricas presentes en las heces pueden alcanzar 10^9 /g de virones infecciosos por gramo de materia fecal. La presencia de esta enfermedad en poblaciones caninas, se debe a la estabilidad del virus en el medio, la dosis alta del virus para la infección y propagación del mismo (Romero *et al.*, 2007).

La transmisión de la Parvovirus canina generalmente ocurre de 8 a 12 días post infección vía fecal - oral. El virus es excretado en las heces de los perros infectados, los cuales actúan como reservorio de la infección (Verges, 2006). La edad y el estado inmunitario del animal, determinan en gran medida la forma y la gravedad de la enfermedad; tras un corto periodo de incubación 4 a 7 días, los animales afectados por el proceso digestivo presentan en forma repentina vómitos, anorexia, fiebre y depresión. En 48 horas, los pacientes presentan el cuadro clínico, los perros gravemente afectados mueren en menos de 3 días y los que sobreviven la enfermedad, desarrollan una inmunidad de larga duración (Wilson, 2010).

❖ Cuadro Clínico

Los signos clínicos asociados al parvovirus canino, pueden variar desde una infección inaparente hasta una enfermedad mortal aguda (Schaer, 2006). Los signos clínicos se inician con letargia, anorexia con o sin pirexia; lo cual progresa en 1 a 2 días con vómitos y diarreas, que a menudo son hemorrágicas con moco. Dolor abdominal, deshidratación desde un 7% hasta un 10% (Pintos *et al.*, 2011).

En los casos graves puede producirse la muerte principalmente en los cachorros muy jóvenes y en las razas muy susceptibles, y generalmente se atribuye a deshidratación, desequilibrio electrolítico, shock endotóxico o sepsis bacteriana fulminante relacionada con leucopenia (Birchard & Sherding, 2002).

La infección por parvovirus en los perros puede dar origen a dos formas clínicas, la forma entérica puede producirse en perros de cualquier edad. Los signos clínicos son: vómito, diarrea que la mayoría de los casos es de color grisáceo y frecuentemente hemorrágico. Al inicio de la enfermedad hay depresión, anorexia y fiebre; la diarrea se hace aparente durante las 6 a 24 horas siguientes a la aparición de los primeros indicios de la enfermedad. El vómito puede ocurrir simultáneamente con la presentación de la diarrea; sin embargo, en numerosos casos puede estar ausente. La diarrea propicia un cuadro de deshidratación severa, la cual es más frecuente en los casos de diarrea hemorrágica, la muerte suele estar asociada a estados severos de deshidratación (Appel *et al.*, 1978; Fritz *et al.*, 1979). La forma cardíaca es otra forma de presentación de la parvovirus en perros se ha diagnosticado solamente en cachorros menores de 12 semanas de edad; sin embargo, puede darse en caso de que animales adultos que sobrevivieron a un proceso de miocarditis de origen parvoviral, sufran de fallas cardíacas a la edad de 5 meses o aún mayores. La forma cardíaca se produce con una tasa de mortalidad superior al 50% en camadas afectadas. Los cachorros muestran postración; a la auscultación se pueden identificar arritmias cardíacas, disnea incluso edemas pulmonares (Carpenter *et al.*, 1980).

Las infecciones intrauterinas o posnatales pueden ocasionar una miocarditis neonatal aguda. Puesto que actualmente las mayorías de las hembras están inmunizadas y transfieren inmunidad de forma pasiva a sus cachorros. Los signos de miocarditis por

parvovirus incluyen disnea secundaria a insuficiencia cardiaca aguda, muerte súbita, arritmias y a veces, la aparición tardía de insuficiencia cardiaca congestiva crónica debido a la fibrosis miocárdica crónica (Birchard & Sherding, 2002).

❖ Diagnóstico

El diagnóstico de Parvovirus canina, depende de la historia clínica del paciente y de las pruebas de laboratorio que se realicen para confirmar dicho diagnóstico (Kenneth, 2005).

Algunos resultados de las pruebas de laboratorio pueden arrojar resultados negativos o falsos positivos, debido a que el paciente, en ese momento no está eliminando por las heces el virus. Por lo cual, es importante conocer el seguimiento clínico del paciente, los signos, la duración del cuadro, para poder decidir otro tipo de pruebas o del tratamiento de la enfermedad (Singh *et al.*, 2006).

Las alteraciones de las pruebas de laboratorio son frecuentes en perros con infección clínica por Parvovirus canina. La leucopenia y neutropenia de la serie blanca, pueden reflejar tanto infección de la médula ósea como sepsis. Debido a la pérdida de sangre entérica pueden desarrollar anemia, hipoproteinemia que puede ser una consecuencia de hipoalbuminemia o ambas. Los vómitos y la diarrea pueden contribuir a las alteraciones electrolíticas y la deshidratación, que llevan a una azoemia pre renal (Craig & Greene, 2009).

Dentro de los exámenes de laboratorio utilizados se encuentra la microscopia 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, 2006). La inmunocromatografía, es otro método de diagnóstico utilizado por su simple y rápido procedimiento, sin embargo requiere grandes

cantidades de antígeno viral para que se produzca un resultado confiable; el cual puede ser subjetivo. La prueba de ELISA, también es un método eficaz y rápido, esta metodología permite además detectar anticuerpos Ig M, específicos para el parvovirus tipo 2, los cuales aparecen en edades tempranas de la infección y desaparece en 2 a 3 semanas después de la enfermedad (Castillo *et al.*, 2001). Debido a que el virus posee unión al ácido sialico la prueba de hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación se puede utilizar como método diagnóstico, se detecta el virus a través de materia fecal. El PCR, por su parte es una prueba altamente sensible ya que requiere de unas pocas moléculas de la secuencia de DNA, para una amplificación, se utiliza muestra de materia fecal o suero. No obstante, el alto costo del equipo y reactivos necesarios hacen que muchos laboratorios no disponga de dicha técnica (Anza *et al.*, 2005).

En la actualidad se utiliza una muestra de materia fecal del paciente para el diagnóstico de Parvovirus mediante la utilización de un kit de ensayo inmunocromatográfico, usando el método de sándwich directo (anti CPV monoclonal captura) y el CPV detector; para la detección cualitativa del antígeno del parvovirus canino. El Kit del Test Rápido para CPV Ag presenta las letras "T" y "C" como línea del test y línea de control, respectivamente, en la superficie del dispositivo. La línea del test y la línea de control no aparecen en la ventana de resultados antes de aplicar las muestras. La línea de control se usa para procedimiento de control y debe aparecer en todo momento si el procedimiento del test se está realizando correctamente. En la ventana de resultados aparecerá una línea del test de color púrpura, siendo el resultado positivo. El propósito de este test es detectar el antígeno del Parvovirus canino por medio de heces caninos en un tiempo de 5 a 10 minutos, esta prueba posee una sensibilidad del 100% versus al ensayo de hemoaglutinación, no tiene reacción cruzada con otros agentes

causales de la diarrea, es fácil de realizar y no requiere equipamiento adicional (Valencia & Ortega, 2009).

Es poco frecuente que la enfermedad tenga una larga duración, los perros gravemente afectados mueren en menos de 3 días y los animales que sobreviven de ésta, desarrollan una inmunidad de larga duración. Al realizar estudios hematológicos, es frecuente encontrar en la serie blanca una leucopenia marcada y neutropenia, también se observa una anemia microcítica hipocrómica, la cual agrava el cuadro clínico del paciente (Shuizhonghan *et al.*, 2011). Siendo la muerte muchas veces relacionada por la deshidratación del canino (Singh *et al.*, 2006).

En la analítica sanguínea los hallazgos más frecuentes fueron hipoproteinemia y leucopenia (linfopenia y neutropenia), constantes en los cuatro casos, y con menos frecuencia elevación de enzimas hepáticas (García *et al.*, 2007).

❖ Patología

A la necropsia, se observa macroscópicamente el íleo y yeyuno flácidos, congestionados y con hemorragias subserosas. El lumen del intestino suele estar vacío o contener exudado; los nódulos linfáticos mesentéricos y submaxilares están aumentados de tamaño, con petequias y edematosos. Algunos patólogos han identificado necrosis en médula ósea, necrosis en la región cortical del timo y atrofia de este órgano en caninos jóvenes (Paredes, 2006).

El corte histopatológico muestra necrosis de células epiteliales de las criptas, cuerpos de inclusión intranucleares, los cuales son de carácter eosinofílicos. Las vellosidades y la lámina propia se ven afectadas como consecuencia de la descamación del epitelio y la incapacidad de remplazar las células epiteliales. Las deficiencias

de absorción del epitelio intestinal debido a la descamación, propicia cambios de permeabilidad y favorece a la aparición de la diarrea (MUVH, 2012).

❖ Tratamiento

No existe tratamiento dirigido directamente frente al virus, por lo que el tratamiento gira entorno a corregir un volumen circulatorio eficaz, controlar las infecciones bacterianas secundarias y proporcionar descanso al sistema digestivo (Castro *et al.*, 2011).

Se recomiendan agentes antimicrobianos porque la combinación de la ruptura grave del epitelio intestinal, permite la entrada de bacterias en la sangre y la neutropenia periférica aumenta el riesgo de sepsis. *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens*, son los agentes más comunes, que afectan a los pacientes con Parvovirus canino, para los cuales la combinación de penicilinas y aminoglucósidos proporciona el mejor espectro antibacteriano; se debe tener en cuenta que antes de administrar fármacos nefrotóxicos, como un aminoglucósido debe mantenerse el estado de hidratación del paciente. Los agentes antieméticos son útiles para reducir la pérdida de líquidos, disminuir el estrés del paciente y permitir la nutrición entérica. Algunos autores recomiendan suprimir el alimento y agua en el transcurso del tratamiento del paciente, otros autores discuten que no es necesario, ya que pacientes con PVC han sido alimentados vía parenteral, desarrollando un menor tiempo de recuperación e incremento del peso corporal (Craig & Greene, 2008).

La mayor parte de los perros con enteritis por parvovirus canino se recuperan si se tratan en forma apropiada para controlar la deshidratación y la invasión bacteriana, si el animal sobrevive los primeros 3 o 4 días de la enfermedad, la recuperación por lo general ocurre rápidamente. Sin embargo, cuando más joven sea el animal, mayor el porcentaje de mortalidad (Juárez, 2011).

En ocasiones se necesita una transfusión de sangre o plasma (5-10ml/kg. IV) para el tratamiento de la anemia hemorrágica grave o la hipoproteinemia (Birchard & Sherding, 2002).

❖ **Pronóstico y Complicaciones**

Si el animal sobrevive los primeros 3 o 4 días de la enfermedad, generalmente se recupera rápidamente. Algunos animales, sin embargo sucumben a la sepsis bacteriana y a la endotoxemia producidas por la leucopenia, la inmunosupresión y la rotura de la barrera mucosa intestinal causada por PVC. En general, cuanto más sea joven es el animal, mayor es el porcentaje de mortalidad (Birchard & Sherding, 2002).

❖ **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 & Sherding, 2002).

El protocolo de vacunación adecuado es fundamental para la prevención del parvovirus (Cramer *et al.*, 2011). 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 *et al.*, 2006).

Protocolo de vacunación recomendado por la American Animal Hospital Association:

- Utilizar una vacuna viva modificada contra el CPV.
- Empezar a una edad entre las 4 y 8 semanas.
- Administrar una dosis de refuerzo después de 3 ó 4 semanas hasta ≥ 16 semanas de edad en la mayoría de las razas.
- Educar a los propietarios sobre la exposición limitada del cachorro durante el período de vacunación.
- Reforzar entre 3 y 4 semanas después.
- Después de la serie inicial, todos deben recibir un refuerzo entre 1 y 3 años después (AAHA, 2012).

2.2.3. CORONAVIROSI CANINA

Coronavirus canino (CCoV) está estrictamente relacionado con el coronavirus de los gatos y los cerdos, con el que ahora se incluye en una única especie viral, dos genotipos diferentes de coronavirus caninos son conocidos, los cuales han sido designados los tipos I y II, y cepas recombinantes canino / porcino también se han identificado en los últimos años. CCoV es generalmente reconocido como el agente etiológico de infecciones autolimitadas del intestino delgado, que puede conducir a gastroenteritis. Sin embargo, hace unos años una gran cepa virulenta (CCoV pantrópica) fue aislada y responsabilizada de un brote sistémico mortal de la enfermedad en cachorros. Esta cepa muestra algunos cambios genéticos con respecto a las cepas existentes que circulan en la población canina. La enfermedad inducida por la cepa aislada del brote natural fue reproducida en condiciones experimentales (Decaro & Buonavoglia, 2010).

➤ **Agente Etiológico**

La Coronavirosis es producida por el coronavirus canino, que es un virus ARN monocatenario encapsulado de la familia Coronaviridae, presenta proyecciones proteicas en su superficie que le dan el aspecto de corona. El virus está cubierto por una membrana lipídica que lo hace relativamente estable en el medio pero lo hace sensible al éter y otros disolventes lipídicos (Ettinger *et al.*, 2007).

Es considerado como el principal patógeno responsable de la gastroenteritis viral aguda en los cachorros, provocando, en algunos casos, la alta morbilidad y mortalidad, principalmente debido a la capacidad de aprovechar las infecciones por otros agentes. Estos virus se distribuyen en todo el mundo en la población canina, siendo responsable de varios brotes en muchos países, especialmente donde hay gran concentración de animales, tales como refugios y perreras (Pinto, 2013).

➤ **Patogenia**

El virus ataca a las células maduras del epitelio de las microvellosidades que cubren las paredes del intestino delgado, causando que se atrofién y fusionen (Hoskins, 1998). Conforme se erosiona la punta de las vellosidades, la capacidad de absorción y digestión disminuyen resultando en diarrea. El virus se mueve hacia el intestino grueso y se excreta en las heces. Las células del epitelio basal en las criptas de las vellosidades del intestino delgado comienzan a dividirse rápidamente, para reemplazar a las células dañadas por el coronavirus. Si no hay factores que lo compliquen, el intestino sanará, las vellosidades se regeneran, y el perro solamente experimentará la diarrea leve y transitoria del coronavirus canino clínico, o inclusive puede parecer completamente asintomático. Sin embargo, otros patógenos entéricos que pueden estar presentes, tienen una fuerte afinidad por las células de las criptas en intensa actividad mitótica, pueden

atacar y replicarse en ellas. Las vellosidades se hacen inclusive más redondeadas y pierden sus funciones de absorción y digestión, dando como resultado una enteritis severa que pone en peligro la vida. Ambas formas, la clínica y la asintomática, pueden crear las condiciones para infecciones con múltiples patógenos (Hoskins, 1998) y enteritis canina que involucre a infecciones simultáneas o subsecuentes por más de un agente de enfermedad entérica, lo que ocurre comúnmente (Appel, 1988).

Dentro de los 2 días posteriores a la exposición oral, el coronavirus canino puede ser encontrado en los dos tercios superiores de las vellosidades duodenales. Después del cuarto día postinfección es común encontrar al virus en todo el intestino delgado agrupado en zonas no uniformemente distribuidas. En ese momento, pequeñas cantidades de virus pueden ser aisladas de los nódulos linfáticos mesentéricos y ocasionalmente del hígado y bazo (Pratelli, 2000).

➤ **Transmisión**

La principal fuente del virus son las heces de perros infectados, y fómites contaminados, y la infección se produce principalmente por la vía oral. El virus puede ser excretada en las heces por hasta 2 semanas después de la infección, pero algunos estudios han demostrado su eliminación por períodos largos (entre 37 y 180 días) (Flores, 2012).

El virus se disemina, principalmente, por vía fecal-oral entre los perros vulnerables. El virus puede vivir en el ambiente durante poco más de un año. La mayoría de las infecciones son subclínicas; los perros de todas las edades pueden afectarse, aunque los cachorros entre 6 y 9 semanas son los más susceptibles, y los animales atacados por este virus, logran producir una inmunidad posterior (Hand *et al.*, 2000; Ettinger *et al.*, 2007). El virus tiene un periodo de incubación de 1 a 4 días (Mauro, 2003). La mayor fuente de infección es la presencia del virus en las

heces. Los perros infectados excretan el virus a través de la materia fecal por 6 - 9 días pero la excreción puede ser más prolongada en algunos cachorros después de que los signos clínicos hayan desaparecido (Pratelli, 2000).

➤ **Cuadro clínico**

Es difícil diferenciar el CVC de otras causas de enteritis infecciosa. Los signos clínicos varían y son los perros afectados de cualquier raza, edad y sexo. Los perros infectados suelen tener diarrea repentina, precedida por vómitos. Las heces son de color naranja, olor desagradable, y rara vez contiene la sangre. Pérdida de apetito y letargia son signos comunes. La presencia de fiebre no es constante, y el marco de la leucopenia no es un aspecto identificado. En casos severos, la diarrea puede ser acuosa y dar lugar a deshidratación y desequilibrios electrolíticos. Perros más afectados se recuperan de forma natural después de 8 a 10 días. Cuando los factores de complicación secundaria están presentes, el curso clínico de la CVC se puede extender (Ettinger & Feldman, 2004).

Macroscópicamente, el intestino delgado se dilata, el contenido es líquido y amarillo o verdoso. La mucosa intestinal es hiperémica y en algunos casos de sangrado. Los ganglios linfáticos mesentéricos pueden estar hinchados. Los perros infectados pueden tener signos leves o moderados de enteritis. Los síntomas más frecuentemente observados son: diarrea, vómitos, deshidratación, pérdida de apetito y letargo, que en ocasiones conducen a la muerte perros jóvenes (Flores, 2012).

➤ **Diagnóstico**

La infección por el Coronavirus es difícil de distinguir clínicamente de las enteritis causadas por otros agentes. Es importante eliminar

otras causas de vómitos y diarrea tal como parvovirus canino tipo 2, enterobacterias, parásitos, venenos y causas no infecciosas de diarrea (Pratelli, 2000).

Históricamente, el diagnóstico definitivo del coronavirus canino requería de la demostración de la presencia del virus en las heces, generalmente por microscopia electrónica (Ettinger *et al.*, 2007). También aislamiento en cultivos celulares y amplificación por reacción en cadena de la polimerasa de tipo “nested” o anidada (Pratelli, 2000). De los métodos usados para la detección del coronavirus canino, la microscopia electrónica parece ser una herramienta de valor diagnóstico y se ha demostrado que es más sensible y útil que el aislamiento viral tanto para detectar coronavirus como rotavirus. Sin embargo, la frecuencia de enfermedad por coronavirus ha sido sobreestimada por los laboratorios de diagnóstico que utilizan la microscopía electrónica como método principal de diagnóstico. La presencia común de partículas virales similares a coronavirus en las heces presenta dificultad para el diagnóstico del coronavirus canino por microscopia electrónica y requiere de la confirmación por otros métodos. La Inmunolectromicroscopía con suero inmune específico permite la confirmación del diagnóstico por microscopia electrónica pero requiere de laboratorios y personal especializados. El aislamiento en cultivos celulares es usado a menudo pero es difícil y requiere de mucho tiempo (Pratelli, 2000).

La inmunocromatografía es una de las técnicas de inmunodiagnóstico más modernas cuyas principales ventajas son la simplicidad y rapidez de la prueba. Cada vez son más las aplicaciones de esta técnica, tanto en el ámbito de los test, debido a que no es necesario reactivos ni instrumentación adicional, como en el campo clínico. El ejemplo más conocido son los test de embarazo de las farmacias, psa, test de troponina I, y recientemente test sobre el VIH (Paz & Gaitán, 2011).

El Fundamento de la inmunocromatografía se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa. La muestra es añadida en la zona del conjugado, el cual está formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítomos del antígeno a detectar y un reactivo de detección. Si la muestra contiene el antígeno problema, éste se unirá al conjugado formando un complejo inmune y migrará a través de la membrana de nitrocelulosa. Sino, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse (Paz & Gaitán, 2011). La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítomo del antígeno. Al llegar la muestra a esta zona, los complejos formados por la unión del antígeno y conjugado quedarán retenidos y la línea se coloreará (muestras positivas). En el caso contrario las muestras son negativas. La zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, con muestras positivas y negativas (Paz & Gaitán, 2011).

➤ **Tratamiento**

El tratamiento de la coronavirus canina es, principalmente, sintomático durante el tiempo necesario para que la enfermedad siga su curso natural. El primer objetivo del tratamiento es la reposición de fluidos y electrolitos por vía endovenosa, ya que la deshidratación y el desequilibrio electrolítico pueden ser mortales por sí solos (Pollock, 1986).

El papel de los antibióticos en el tratamiento de la coronavirus canina no ha sido confirmado. El uso de antibióticos en perros con diarrea, aunque no está universalmente aceptado, ha sido apoyado porque las bacterias pueden ser patógenos primarios o

secundarios y no siempre se realizan los intentos necesarios para definir una etiología vírica (Ettinger *et al.*, 2007).

La introducción del antibiótico en tal ecosistema complejo, obviamente tendrá un impacto destructivo en extremo y la necesidad de antibióticoterapia siempre debe ser comparada con sus potenciales riesgos. Puesto que, ningún antibiótico mata a todos los organismos, la reducción de una población permitirá la proliferación de otra resistente que cubre el vacío, cuya reproducción puede tener efectos negativos sobre el huésped, creando infección o dañando la mucosa. Algunos de estos organismos, en particular las cepas Gram negativas, también pueden adquirir resistencia a múltiples drogas (Fossum *et al.* 1999; Ettinger *et al.*, 2007). El tratamiento antibiótico está especialmente indicado en los casos en los que exista sospecha de infección mixta con parvovirus canino, a causa de la inmunodepresión inducida por este último virus. También puede ser beneficioso el aporte de protectores de la mucosa intestinal (Appel, 1988).

La administración de cualquier medicación por vía oral está contraindicada durante la fase aguda de la enfermedad, debido a la posibilidad de emesis y al enlentecimiento del vaciado gástrico (Ettinger *et al.*, 2007).

➤ **Prevención**

Una vía para prevenir la infección de Coronavirus es impedir el contacto de los animales con otros perros infectados o con sus excreciones. El hacinamiento, las malas condiciones sanitarias, el estrés durante el entrenamiento y otras causas de estrés en el medio ambiente predisponen al desarrollo de la enfermedad clínica (Pratelli, 2000).

Además se aplican vacunas con virus vivo modificado que ofrece ventajas que la distinguen sobre las vacunas con coronavirus

muerto, debido a que se enfoca a la fisiopatología característica de la enfermedad. Las vacunas con virus vivo modificado proporcionan tanto inmunidad mediada por células, como inmunidad humoral de larga duración, y requieren de una masa antigénica menor para generarlas (Greene, 2000). La protección con las vacunas vivas modificadas es rápida, prolongada y puede alcanzarse ante la presencia de anticuerpos maternos. El coronavirus canino es una infección de la superficie de la mucosa intestinal, con muy poca diseminación sistémica del virus, de manera que la inmunidad localizada, mediada por células y generada en la mucosa del intestino, es más importante que la respuesta sistémica por anticuerpos (Mackowiak & Pardo, 2003).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Distrito de Chota - Cajamarca, con muestras de heces caninas que llegaron a los consultorios veterinarios “Dr. ESTELA” y “TAFUR”, cuyas características geográficas y meteorológicas (*) son:

Temperatura máxima:	19,3° C
Temperatura media:	15,1°C
Temperatura mínima:	8,5°C
Precipitación pluvial:	916 mm (promedio anual)
Humedad relativa:	67-85 %
Altitud:	2387 msnm
Latitud:	06°33'47" SUR.
Longitud:	78°39'03" OESTE
Superficie:	261,75 KM2

(*) PRONÓSTICO EXTENDIDO A NIVEL NACIONAL
Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI) – 2016.
<https://es.climate-data.org/location/29572/>

3.2. MATERIALES

3.2.1. Material Biológico

Heces de 20 caninos menores de un año, diferente sexo y raza, diagnosticados clínicamente con enteritis hemorrágica.

3.2.2. Reactivo

Kit de ensayo: Anigen Rapid, diagnóstico de CPV Ag y CCV Ag.

- | | | |
|------------------------|---|------------------------------|
| 1.- Prueba | : | 20 unidades |
| 2.- Solución diluyente | : | 20 tubos de muestra (0.2 ml) |
| 3.- Pipetas Pasteur | : | 20 unidades |

3.2.3. Material de Consultorio

- Termómetro
- Guantes de revisión
- Mesa de examen clínico
- Fichas de datos
- Algodón
- Alcohol 96°
- Papel higiénico
- Mandil o chaqueta
- Estetoscopio

3.2.4. Otros

- Cámara fotográfica digital
- Lapiceros
- Bolsas

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. Selección de caninos

Se seleccionaron 20 caninos diagnosticados clínicamente con enteritis hemorrágica, en los diferentes Consultorios Veterinarios “Dr. ESTELA” y “TAFUR” del Distrito de Chota - Cajamarca, en los meses de febrero, marzo y abril del 2017.

3.3.2. De La Prueba

En el presente trabajo de investigación se utilizó la prueba cromatográfica comercial Anigen Rapid CPV/CCV Ag Test Kit®. Fabricado por el Laboratorio Bionote.

Para Parvovirus la prueba tiene una especificidad y sensibilidad del 98,8% y 100%, respectivamente, mientras que para Coronavirrosis la especificidad es del 93,15 y la sensibilidad del 97,5%.

✓ Principios

El Kit de Prueba de Antígeno de Parvovirus-Coronavirus Canino es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa del antígeno Parvovirus Canino y el antígeno Coronavirus en heces caninas

El kit de análisis de Ag de Parvovirus Ag y Coronavirus Anigen Rapid Canine tiene las letras "T" y "C" como la línea de prueba y la línea de control en la superficie del dispositivo. Tanto la línea de prueba como la línea de control en la ventana de resultados no son visibles antes de aplicar cualquier muestra. La línea de control se utiliza para el control de procedimientos y debe aparecer siempre si el procedimiento de prueba se realiza correctamente y los reactivos de prueba de la línea de control están funcionando. Una línea de

prueba de color púrpura será visible en la ventana de resultados si hay suficiente Antígeno de Parvovirus Canino y/o Antígeno de Coronavirus Canino en la muestra (Seogu-dong *et al.*, 2013).

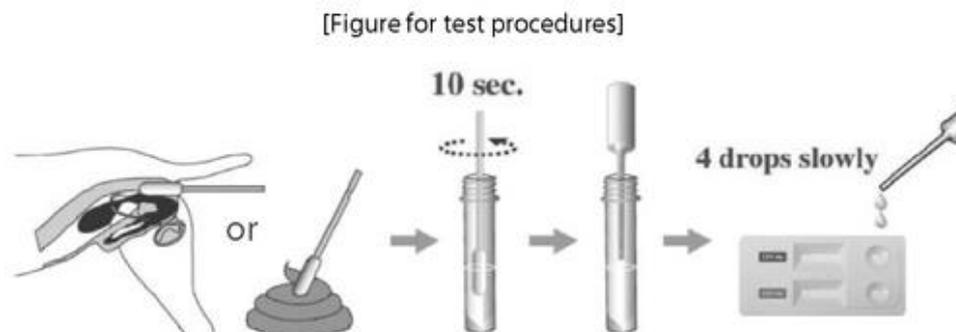
Los anticuerpos de Parvovirus Canino especialmente seleccionados y los anticuerpos de Coronavirus Canino se usan en la banda de prueba como materiales de captura y de detector. Estos permiten que el Anigen Rapid CPV / CCV Ag Test Kit para identificar el antígeno parvovirus canino y el antígeno Coronavirus canino en heces caninas con un alto grado de precisión (Seogu-dong *et al.*, 2013).

✓ **Recogida y preparación de muestras**

Se usó muestras de heces caninas para esta prueba.

3.3.3. Procedimiento de la prueba

1. Se procedió a recoger una muestra de heces caninas utilizando un hisopo.
2. Insertamos el hisopo en un tubo de muestra que contiene 1 ml de diluyente de ensayo.
3. Mezclamos la muestra de hisopo con el diluyente de ensayo vigorosamente para extraer los virus.
4. Retiramos un dispositivo de prueba de una bolsa de aluminio y colocamos sobre una superficie plana y seca.
5. Se utilizó el cuentagotas, tomamos una alícuota de la muestra extraída y mezclada en el tubo.
6. Agregamos cuatro gotas en el orificio de la muestra usando el cuentagotas. El diluyente de ensayo debe añadirse exactamente, lentamente, gota a gota.
7. A medida que la prueba comienza a funcionar, veremos un color morado moverse a través de la ventana de resultados en el centro del dispositivo de prueba.
8. Interpretamos los resultados de la prueba a los 5 - 10 minutos.



3.3.4. Interpretación de la prueba

Aparecerá una banda de color en la sección izquierda de la ventana de resultados para mostrar que la prueba funciona correctamente, esta banda es la banda de control "C". La sección derecha de la ventana de resultados indica los resultados de la prueba. Si aparece otra banda de color en la sección derecha de la ventana de resultados, esta banda es la banda de prueba "T" (Seogu-dong *et al.*, 2013).

Resultado Negativo

La presencia de una sola banda "C" dentro de la ventana de resultados en ambas áreas de prueba de CPV Ag y CCV Ag indica un resultado negativo.



A. Resultado Positivo a CPV y CCV Simultáneo

La presencia de dos bandas de color ("C" y "T") dentro de la ventana de resultados tanto en las áreas de prueba de CPV Ag como de CCV Ag, respectivamente.



B. Resultado Positivo a CPV

La presencia de dos bandas de color ("C" y "T") dentro de la ventana de resultados en el área de prueba de CPV Ag, y la presencia de una sola banda ("C") dentro de la ventana de resultados en el área de prueba de CCV Ag. Indica un resultado positivo de parvovirus canino (Seogu-dong *et al.*, 2013).



C. Resultado Positivo a CCV

La presencia de dos bandas de color ("C" y "T") dentro de la ventana de resultados en el área de prueba de CCV Ag, y la presencia de una sola banda ("C") dentro de la ventana de resultados en el área de prueba de CPV Ag. Indica un resultado positivo de Coronavirus canino.



D. Resultado no válido

Si la banda de color púrpura no es visible dentro de la ventana de resultados después de realizar la prueba, el resultado se considera inválido. Es posible que las instrucciones no se hayan seguido correctamente o que la prueba se haya deteriorado. Se recomienda repetir la muestra (Seogu-dong *et al.*, 2013).



3.4. ESTADÍSTICA

Se utilizó estadística descriptiva, una prueba de “Z” de proporciones, con la utilización de tablas de frecuencia y clasificación de variables.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Cuadro 1. Frecuencias de Parvovirus canino, mediante el método de inmunocromatografía - Chota – 2017

	Frecuencia	Porcentaje
Positivo	12	60
Negativo	8	40
Total	20	100

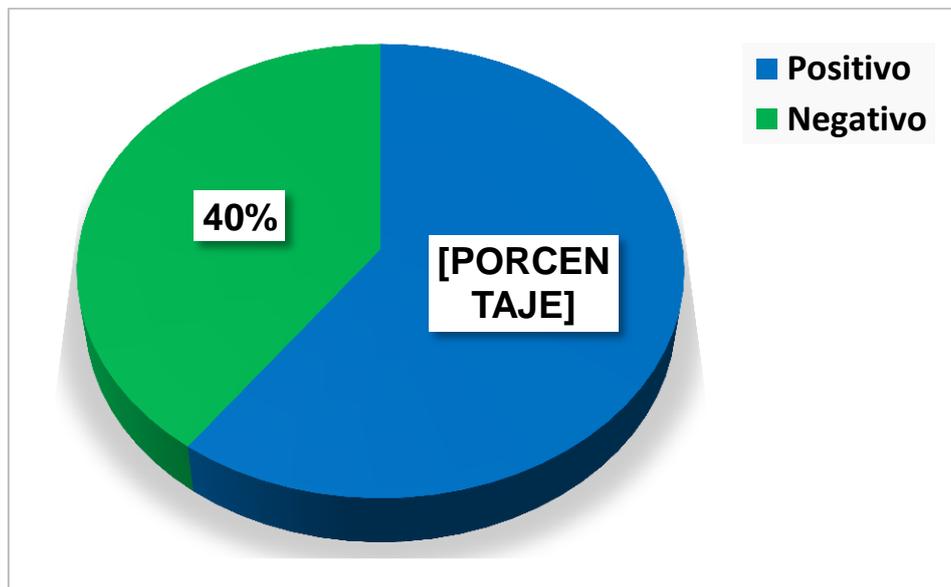


Fig. 1. Porcentaje de Parvovirus canino, mediante el método de inmunocromatografía - Chota – 2017.

Cuadro 2. Frecuencias de Coronavirus canino, mediante el método de inmunocromatografía - Chota – 2017.

	Frecuencia	Porcentaje
Positivo	3	15
Negativo	17	85
Total	20	100

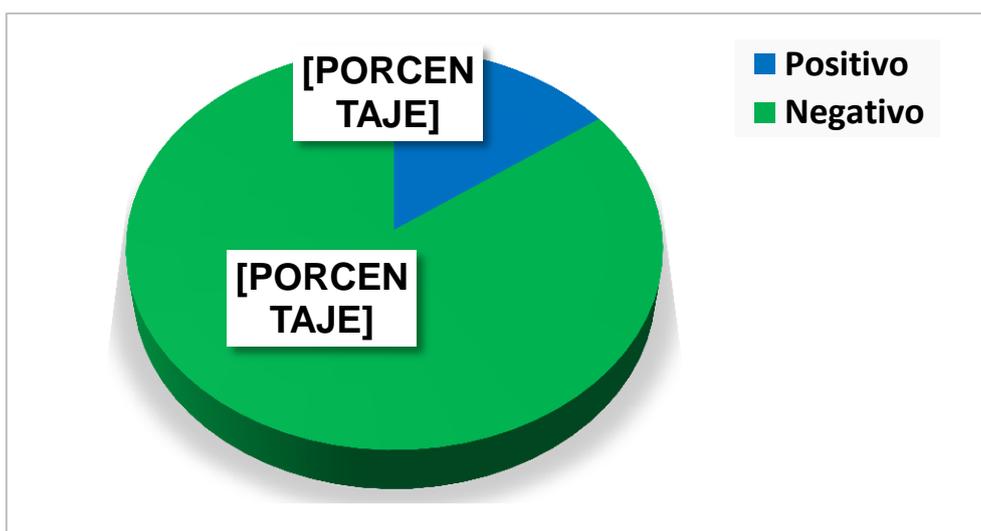


Fig. 2. Porcentaje de Coronavirus canino, mediante el método de inmunocromatografía - Chota – 2017.

Cuadro 3. Frecuencias de Parvovirus y Coronavirus canino simultáneamente, mediante el método de inmunocromatografía - Chota – 2017.

	Frecuencia	Porcentaje
Positivos	0	0
Negativos	20	100
Total	20	100

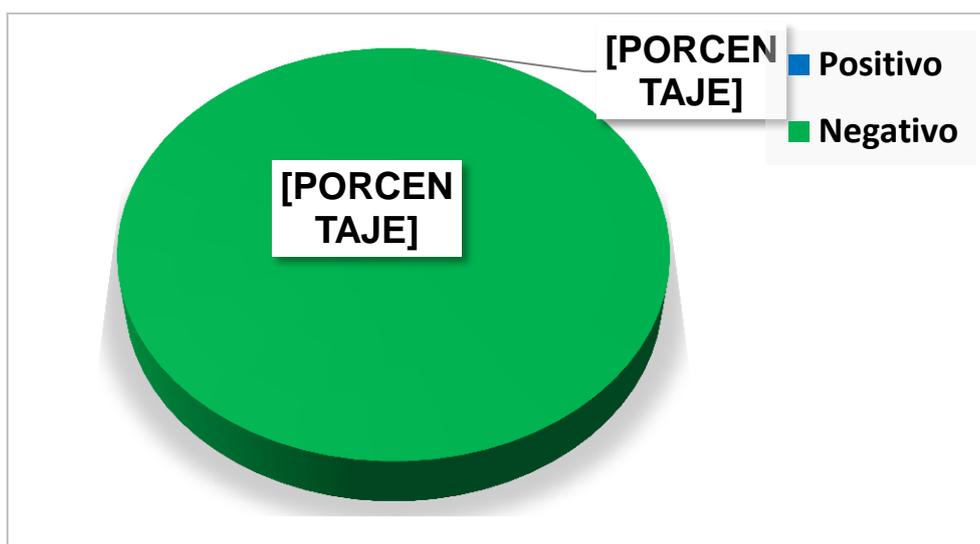


Fig.3. Porcentaje de infección por Parvovirus y Coronavirus caninos simultáneamente, mediante el método de inmunocromatografía- Chota – 2017.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

En el Cuadro 1, se aprecian los resultados encontrados en veinte caninos con diarrea hemorrágica sometidos al Kit[®] de test inmunocromatográfico comercial de prueba rápida Anigen, CPV/CCV Ag, para el diagnóstico de Parvovirus y Coronaviriosis canina, hallándose que el 60% (12/20) fueron positivos a Parvovirus, al respecto cabe mencionar que en la ciudad de Cajamarca, se llevó a cabo un estudio similar desarrollado por Portocarrero (2015), utilizándose el mismo número de caninos con diarrea hemorrágica y el mismo test, encontrándose en ese caso un 55% de positivos a parvovirus, siendo similar estadísticamente al presente trabajo (Anexo 7), lo que podría deberse que el virus del parvovirus canino, se encuentra similarmente diseminado en el departamento de Cajamarca. En un estudio realizado en el distrito de Comas en Lima, Ramos (2016) demostró que la positividad de parvovirus canina fue del 35%; menor a lo reportado en el presente estudio, probablemente debido a que el resultado se encontró en la región Costa, donde los propietarios tienen un mayor control de estas enfermedades, poseen una mayor economía y tienen un mejor cuidado de la mascota. Otros datos encontrados en otros países han demostrado similares resultados a los encontrados en nuestro estudio, por ejemplo en el Reino Unido, se encontró 58% de muestras positivas a parvovirus mediante la Reacción de Cadena de la Polimerasa (PCR) (Godsall *et al.*, 2010); en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata - Argentina se demostró el 17%, mediante microscopía electrónica (Del Amo *et al.*, 1999); y en Alemania el 19,9% también por microscopía electrónica (Kempf *et al.*, 2010), lo que demuestran las diferentes formas de realizar el diagnóstico de parvovirus, para el caso del PCR es una técnica diagnóstica sensible y específica, al igual que la microscopía electrónica, ya que la parvovirus es considerada mortal debido a que afecta las vellosidades intestinales, afectando desde la cripta y provocando descamación y sangrado a nivel intestinal, además de gastritis e infarto por lo

tanto el diagnóstico temprano nos ayudaría a que la evolución del paciente sea más rápida, satisfactoria y no mortal.

En el Cuadro 2, se observan los resultados con el mismo test de diagnóstico, hallados con el mismo número de animales con diarrea hemorrágica, para Coronaviriosis canina, pudiéndose apreciar que fueron positivos solo el 15% (3/20); comparando los resultados obtenidos con Portocarrero (2015), el autor reporta 5% a coronavirus estadísticamente menor al presente trabajo (Anexo 8). En lo concerniente a datos proporcionados por autores extranjeros, en Inglaterra en la Universidad de Liverpool, se diagnosticó mediante PCR a pacientes que tenían diarrea encontrándose el 8,8% de muestras positivas a coronavirus entérico (Staviskya *et al.*, 2012); el 7% hallado en un trabajo realizado en la Universidad Nacional de La Plata – Argentina, estudio realizado por microscopia electrónica (Del Amo *et al.*, 1999); el 66,3% encontrado en un estudio llevado a cabo en Japón, realizado por PCR (Soma *et al.*, 2010). Estas variaciones en las frecuencias puede deberse a que los cachorros no son vacunados rutinariamente ya que la coronaviriosis no es considerada mortal por los especialistas, debido a que solo afecta la porción final de la vellosidad intestinal, se considera como mortal en pacientes muy emaciados o débiles y además no provoca mortalidad en animales mayores de tres meses Craig, E., & Greene (2009), por lo tanto la aplicación de la vacuna depende del criterio del médico veterinario tratante.

En el Cuadro 03, en el presente trabajo de investigación no se encontró una infección dual a parvovirus y coronaviriosis a la vez, como si lo reportan con el 5% (Del Amo *et al.*, 1999) y con el 10% (Portocarrero, 2015). Es importante destacar que el número y porcentaje de caninos con diarrea hemorrágica que fueron negativos a ambas enfermedades virales, fue del 25%, estos caninos probablemente estuvieron sufriendo de alguna otra enfermedad viral, bacteriana o parasitaria, como es la infección por rotavirus, astrovirus, paramixovirus, picornavirus, etc., como lo reporta (Hammond y Timoney, 1963); (Pollock y Carmichael, 1992), o podría tratarse de *Salmonella* (Staviskya *et al.*, 2012), colibacilosis, anquilostomas, *Giardia spp*, *Cryptosporidium spp* y coccidia (Tupler *et al.*, 2012).

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

1. La frecuencia de presentación a Parvovirus canino (60%) es mayor que la frecuencia de presentación a Coronavirus canino (15%), diagnosticados mediante la prueba de Inmunocromatografía, en los caninos que llegaron a los consultorios veterinarios del Distrito de Chota.
2. No se presentaron casos de infecciones simultáneos a Parvovirus y Coronaviriosis.

CAPÍTULO VII

LISTA DE REFERENCIAS

- American Animal Hospital Association. 2012.** Healthypet. Recuperado el 26 de marzo del 2012. Disponible en: <http://www.healthypet.com/default.aspx>.
- Anza, S., Fuentes, D., Vera, V., Villamil, C. & Ramírez, G. 2005.** Aglutinación en látex, Elisa y hemoaglutinación. Alternativas para el diagnóstico de PVC en heces. Revista médica veterinaria. Vol. 8, N° 2. pp 8.
- Appel, J. 1988.** ¿El coronavirus aumenta los efectos de la infección posterior por parvovirus? Medicina Veterinaria. Manual del interferón Veterinario. España. Primera edición. Editorial Virbav. pp. 19-36.
- Appel, J., Cooper, J., Greisen, H. & Carmichael, E. 1978.** Status report: Canine viral enteritis. J. Am. Vet. Med. Assn. 173:1516-1518.
- Betancour, O. & Correa R. 2012.** Prevalencia de Distemper y Parvovirus canino en un grupo de perros de la Ciudad de Medellín, que ingresaron al servicio de la Unidad de Diagnóstico de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia. Laboratorio Clínico Veterinario.
- Birchard, S. & Sherding, G. 2002.** Manual Clínico de Procedimientos en Pequeñas Especies. España. 2da edición. Vol. I. pp. 127-135.
- Carpenter, J., Roberts, R., Harpster, N. & King, N. 1980.** Intestinal and cardiopulmonary forms of parvovirus infection in a litter of pups J, Ant. Vet. Med, Assn. 176:1260-1273
- Castillo, A., Almanza, H. & Jerabek, J. 2001.** Análisis clínicos sintomáticos tomados en Bogotá, Colombia. Redalyc. Vol. 6. N° 36. Pp 2- 4.

- Castro, T., Costa, E., Leite, J., Labarthe, N., García, R. 2011.** Monitoring of canine parvovirus (CPV) strains detected in Brazil. *Research in Veterinary Science*, 90(2), 336-340. Doi: 10.1016/j.rvsc.2010.06.005.
- Cotmore, S. & Tattercell, P. 2007.** Parvoviral host range and cell entry mechanisms. *Advance in Virus Research*. 70: 183-227. Disponible en: <file:///C:/Users/user/Downloads/Dialnet-AspectosMolecularesDelVirusDeLaParvovirosisCaninaY-4943854.pdf>
- Craig, E. & Greene. 2008.** Enfermedades infecciosas del perro y el gato. Georgia: Saunders Elsevier.
- Craig, E. & Greene. 2009.** Dreaded doggie diarrhea canine viral enteritis. Recuperado el 8 de abril 2012. Disponible en: <http://www.ivis.org/home.asp>
- Cramer, K., Stylianides, E. & Van Vuuren, M. 2011.** Efficacy of vaccination at 4 and 6 weeks in the control of canine parvovirus. *Veterinary Microbiology*, 149(1/2), 126-132. doi:10.1016/j.vetmic.2010.11.004.
- Decaro, N. & Buonavoglia C. 2010.** Canine Coronavirus: Not Only an Enteric Pathogen. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22041207>
- Decaro, N., Martella, V., Desario, C., Bellacicco, L., Manna, L. & Buonavoglia, C. 2006.** First Detection of Canine Parvovirus Type 2c in Pups with Haemorrhagic Enteritis in Spain. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 53(10), 468-472. doi:10.1111/j.1439-0450.2006.00974.x
- Del Amo, A., Aprea, A. & Petruccelli, M. 1999.** Detection of viral particles in feces of young dogs and their relationship with clinical signs. Servicio Central de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, República Argentina. *Revista de Microbiología* (1999) 30:237-241 ISSN 0001-3714
- Denzegrini, R., Weiblen, R. & Flores, E. 2007.** Sobre prevalencia das infecciones por Parvovirus, Adenovirus, Coronavirus canino. E pelo virus da cinomose ENCAES de Santa María, Rio grande do sul, Brasil. Recuperado 3 marzo del 2012 de EBSCO- HOST.

Dong-Jun., Hye-Young., Woo-Seok., Sung-Won., Dae-Sub., Jin-Sik & Bong-Kyun. 2010. A Serological Survey of Canine Respiratory Coronavirus and Canine Influenza Virus in Korean Dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 72(9): 1217–1219, 2010.

Ettinger, J., Stephen, C., Edward, C. & Feldman, C. 2007. Tratado de medicina interna veterinaria; enfermedades del perro y el gato. España: Elsevier.

Ettinger, J. & Feldman, C. 2004. Tratamiento de medicina interna veterinaria. Editora Guanabara, volumen 1, 5ª edición. Rio de Janeiro. Págs. 444 e 445. Disponible en: http://fait.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/9hW6wcB73z9FvqP_2015-2-3-15-48-50.pdf

Ezeibe, M. & Nwaogu, I. 2010. Aluminium - magnesium silicate inhibits parvovirus and cures infected dogs. Department of veterinary university of Nigeria. Vol 2 N° 10. pp. 10- 11.

Flores, R. 2008. Parvovirus canina y aspectos de inmunización, investigación laboratorio Lytton de México. México.

Flores, E. 2012. Virología veterinaria. Editora Ufsm, 2ª edición. Santa María. Págs.: 726, 727 e 728. Disponible en: http://fait.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/9hW6wcB73z9FvqP_2015-2-3-15-48-50.pdf

Fossum, T., Hedlund, D., Johnson, A., Seim, H., Willard, M. & Carroll, G. 1999. Cirugía en Pequeños Animales. Argentina. Editorial Interamericana. 1282 p.

Fritz, T. 1979. Canine enteritis caused by a parvovirus. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 174:5-6.

García, I., Segovia, C., Daza, M. 2007. Manejo clínico de la parvovirus canina en urgencias. Dpto. Medicina y Cirugía Animal. Fac Vet. UCM Madrid. RCCV Vol. 1 (2).

- Godsall, S., Clegg, S., Stavisky, J., Radford, A. & Pinchbeck, G. 2010.** Epidemiology of canine parvovirus and coronavirus in dogs presented with severe diarrhoea to PDSA Pet Aid hospitals. *Vet. Rec.*, 167. pp. 196–201
- Greene, C. 2000.** Enfermedades infecciosas en perros y gatos. Segunda edición. México. Editorial McGraw- Hill Interamericana. pp. 50 – 51.
- Hammond, M. & Timoney, P. 1983.** An electron microscopic study of viruses associated with canine gastroenteritis. *Cornell Vet.* 73: 82-97, 1983
- Hand, M., Thatcher, C., Remillard, R. & Rovdebush, P. 2000.** Nutrición Clínica en Pequeños Animales. Cuarta Edición. Argentina. Editorial Interamericana. pp. 151 – 158.
- Hoskins, J.D. 2009.** Canine parvovirus: an update on variants. *DVM: The Newsmagazine of Veterinary Medicine*, 40(8), 6S-8S.
- Hoskins, J.D. 1998.** Canine viral enteritis. In: Greene CE (ed). *Infectious Diseases of the Dog and Cat Philadelphia: WB Saunders Co.* pp. 40-49. Disponible en: <http://www.webveterinaria.com/merial/coronavirus.pdf>
- Juares, A. 2011.** Cambios hematológicos en perros positivos a parvovirus canino. Tesis de pregrado. Universidad de Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Guatemala.
- Kempf, C., Schulz, B., Strauch, C., Sauter, C., Truyen, U. & Hartmann, K. 2010.** Detección de virus, signos clínicos y los hallazgos de laboratorio en perros con diarrea hemorrágica aguda. Un estudio retrospectivo de 935 casos. Instituto de Higiene Animal y Veterinaria Pública. Universidad de Múnich.
- Kennet, L. 2005.** Patología Clínica Veterinaria. España: Multimedica Ed. Vet., 558 páginas.
- Mackowiak, M. & Pardo, C. 2003.** Eficacia de la vacuna de coronavirus canino – virus vivo modificado (VVM). [En línea] México. (Fecha de consulta: 21 de diciembre del 2016). Disponible en: <http://www.webveterinaria.com/merial/CoronaVirusCanino.pdf>

- Mauro, L. 2003.** Coronaviriosis canina – Mito o Realidad. Redvet [en línea]. Septiembre 2003, n° 9. [Fecha de consulta: 8 enero 2013]. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090903.html>
- Miriakshi, S. & Posada, G. 2008.** Rapid sensitive and cost effective method for isolation of viral DNA from fecal samples of dogs. Veterinary world. Vol. 3 N° 3. pp 16
- Murdoch University Veterinary Hospital. 2012.** Canine parvovirus. Recuperado el 4 de mayo del 2012. Disponible en: <http://www.murdoch.edu.au/Services/Veterinary-Hospital/About-us/Contact-us/>
- Paredes, C. 2006.** Hallazgos histopatológicos en duodenos de caninos. Tesis de pregrado publicada. Universidad Austral de Chile, Santiago de Chile.
- Pintos, A., Larrama, C., Baratta, E., Barthe, M. & Rodonz, J. 2011.** Isolation and characterization of canine parvovirus type 2c circulating in Uruguay. Ciencia Rural, 41(8), 1436-1440.
- Pinto, D. 2013.** Detección y caracterización de parvovirus canino y coronavirus canino. Porto Alegre. Pp. 3. Disponible en: http://fait.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/9hW6wcB73z9FvqP_2015-2-3-15-48-50.pdf
- Pollock, R. 1986.** Enteric infections: canine viral enteritis. En: Current Veterinary Therapy VIII. Small animal practice. pp. 1164 – 1168.
- Pollock, R. & Carmichael, L. 1992.** Enteritis viral canina. In Greene, C.E. (ed.): enfermedades infecciosas. Perros y gatos. Ed. Interamericano. México, 1992, pp. 280-300
- Portocarrero, F. 2015.** Diagnóstico de Parvovirus y Coronavirus Canino por el Método Inmunocromatográfico en la ciudad de Cajamarca. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Cajamarca. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cajamarca Perú.

Pratelli, A. 2000. Infección por coronavirus canino. [En línea]. Italia. [Fecha de consulta: 03 noviembre 2012]. Disponible en: <http://dc127.4shared.com/doc/bVR8tv7u/preview.html>

Quinn, P. 2011. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Londres: Blackwell. Second Edition. Julio. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=C7-PgRWgJegC&oi=fnd&pg=PR10&dq=QUINN+D.+2011.+Veterinary+Microbiology+and+Microbial+Disease.&ots=uPqVQPsh-q&sig=x_lpcbAiUJ0VxNZBy4belYwb3IE#v=onepage&q&f=false

Ramos, C. 2016. Frecuencia de Presentación de Parvovirus y Coronavirus Canino Diagnosticados por el Método Inmunocromatográfico en el Distrito de Comas – Lima. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Cajamarca. Facultad de Ciencias Veterinarias.

Romero, R., Aranda, E., Godoy, F. & Watty, A. 2007. Immunohistochemical diagnosis of canine parvovirus-2 (cpv-2) in domestic dogs. Veterinaria México, 38(1), pp 41-53.

Ruiz, A., Cardona, E. & Ducang, A. (2007). Diagnóstico del parvovirus canino -2 por inmunohistoquímica en perros domésticos. Revista veterinaria de México. Vol. 38 N° 001.

Seogu-Dong., Hwaseong-Si. & Gyeonggi-Do. 2013. Fabricado por Bionote. Inc., 2-9, Anigen Rapid Canine Parvovirus-Coronavirus Antigen Test Kit. Corea (445-170). Disponible en: <https://www.drugs.com/vet/anigen-rapid-canine-parvovirus-coronavirus-antigen-test-kit.html>

Schaer, M. 2006. Medicina clínica del perro y el gato. Barcelona: Masson.

Shuizhonghan., Baozhu, Q., Xiaoying. & Zhang. 2011. A retrospective analysis on phylogeny and evolution of CPV islotes in china. Recuperado el 5 de abril del 2012. Disponible en: <http://scialert.net/fulltext/?doi=ajava.2011.1204.1213&org=10>.

Singh, P., Destito, G., Schneemann, A. & Manchester, M. 2006. Canine parvovirus-like particles, a novel nanomaterial for tumor targeting. *Journal of Nano biotechnology*, 42-11. Doi: 10.1186/1477-3155-4-2 50 Six cases of canine parvovirus confirmed at Occupy San Francisco. (2012). *DVM: The Newsmagazine of Veterinary Medicine*, 43(1), 7.

Soma, T., Ohinata, T., Ishii, H., Takahashi, T., Taharaguchi, S. & Hara, M. 2010. Detección y determinación del genotipo de ARN coronavirus canino en perros con diarrea en Japón. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.05.027>

Staviskya, J., Pinchbeck, G., Gaskell, R., Dawson, S., German, A. & Radford, A. 2012. Cross sectional and longitudinal surveys of canine enteric coronavirus infection in kennelled dogs: A molecular marker for biosecurity. Institute of Infection and Global Health, School of Veterinary Science, University of Liverpool, Leahurst Campus, and Wirral CH64 7TE, United Kingdom.

Tupler, T., Levy, J., Stephanie, J., Sabshin, S., Tucker, S., Ellis, C., Greiner. & Leutenegger, C. 2012. Enteropatógenos identificados en los perros que entran en un refugio de animales de la Florida con las heces normales o diarrea. *Revista de la Asociación Americana de Medicina Veterinaria*. 01 de agosto 2012, vol. 241, N° 3, Páginas 338-343 doi:10.2460/javma.241.3.338.

Truyen, U. (2002). Parvovirus canino. *Veterinary Microbiology*, 1(2), 12–15. Disponible en: http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/auxiliarveterinario/13/13-Parvovirus.pdf

Valencia, S. & Ortega, M. 2009. Estado inmune humoral frente al virus del moquillo, parvovirus canino y leptospiras en un canino. *Redvet*. Vol. 10. N° 30. Recuperado el 6 de mayo del 2012 de la base de datos fuente académica EBSCO Host.

Verges, R. 2006. Tratado de microbiología veterinaria. Mexico: interamericana.

Willard, D. 2006. Diagnóstico clínico patológico práctico en los pequeños animales. España: Intermedica.

Wilson, J. (2010). Deadly dog virus brought on by wet Weather. Recuperado el 3 de febrero del 2012 de la base de datos fuente académica EBSCO HOST.

ANEXO

ANEXO 2. Fotografías que registran la metodología utilizada en el presente trabajo de investigación sometidos a la prueba cromatográfica comercial Anigen Rapid CPV/CCV Ag Test Kit®.

POSITIVO A PARVOVIRUS CANINO



Fig. 6. Recolectando las heces utilizando un hisopo.

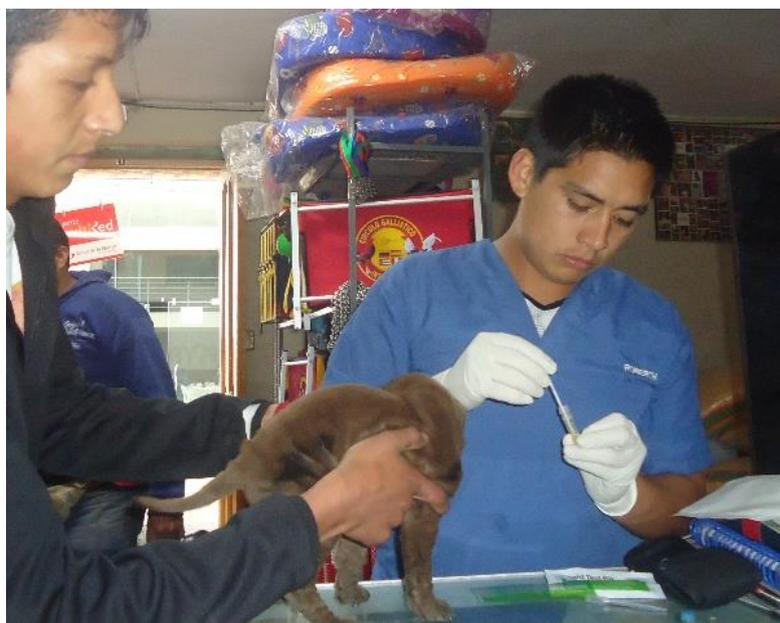


Fig. 7. Insertamos el hisopo y mezclamos la muestra con el diluyente de ensayo vigorosamente para extraer los virus en un tubo.



Fig. 8. Retiramos un dispositivo de prueba y colocamos sobre una superficie plana y seca.

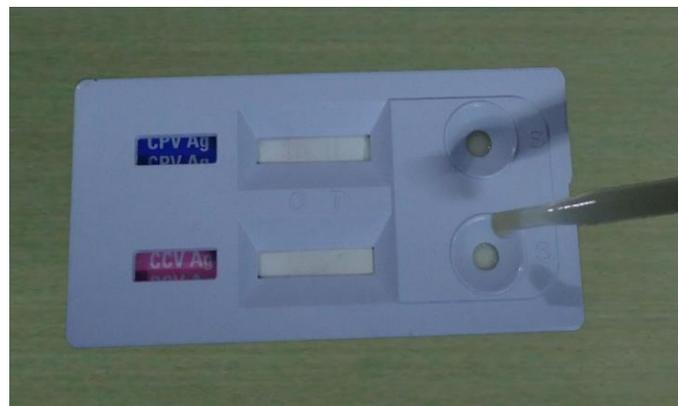


Fig. 9. Se utilizó el cuentagotas para tomar una alícuota de la muestra mezclada en el tubo. Agregamos cuatro gotas en el orificio de la muestra lentamente.

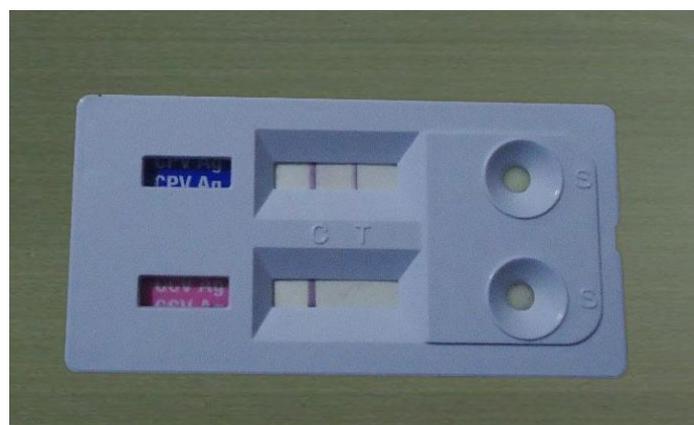


Fig. 10. Interpretación del resultado de la prueba a los 5-10 minutos:
CPV+

ANEXO 3. Fotografías que registran la metodología utilizada en el presente trabajo de investigación sometidos a la prueba cromatográfica comercial Anigen Rapid CPV/CCV Ag Test Kit[®].

POSITIVO A CORONAVIRUS CANINO

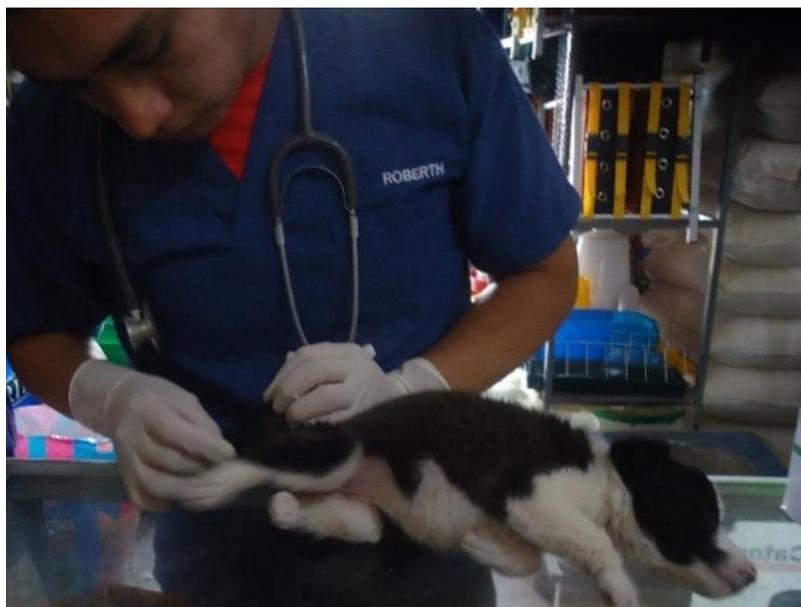


Fig. 11. Recolectando las heces utilizando un hisopo.



Fig. 12. Insertamos el hisopo y mezclamos la muestra con el diluyente de ensayo vigorosamente para extraer los virus en un tubo.



Fig. 13. Retiramos un dispositivo de prueba y colocamos sobre una superficie plana y seca.

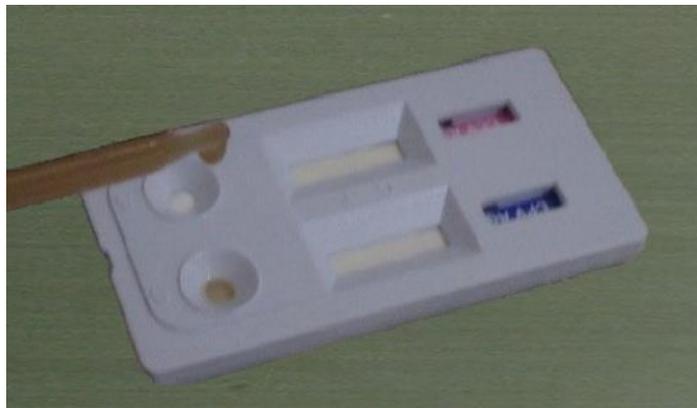


Fig. 14. Se utilizó el cuentagotas para tomar una alícuota de la muestra mezclada en el tubo. Agregamos cuatro gotas en el orificio de la muestra lentamente.

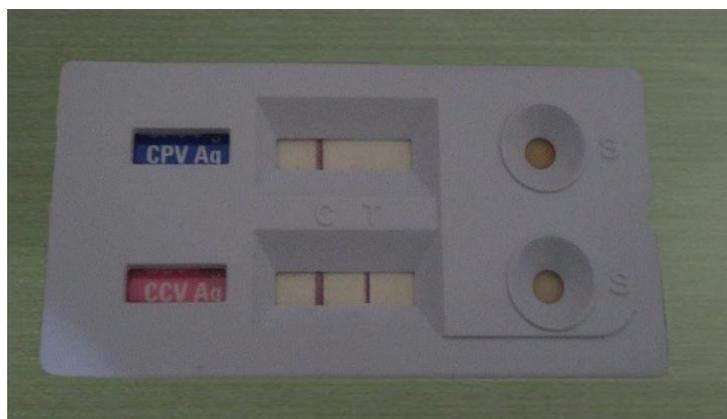


Fig. 15. Interpretación del resultado de la prueba a los 5 - 10 minutos:
CCV+

ANEXO 4. Fotografías que registran la metodología utilizada en el presente trabajo de investigación sometidos a la prueba cromatográfica comercial Anigen Rapid CPV/CCV Ag Test Kit®.

NEGATIVO A PARVOVIRUS Y CORONAVIRUS



Fig. 16. Recolectando las heces utilizando un hisopo.

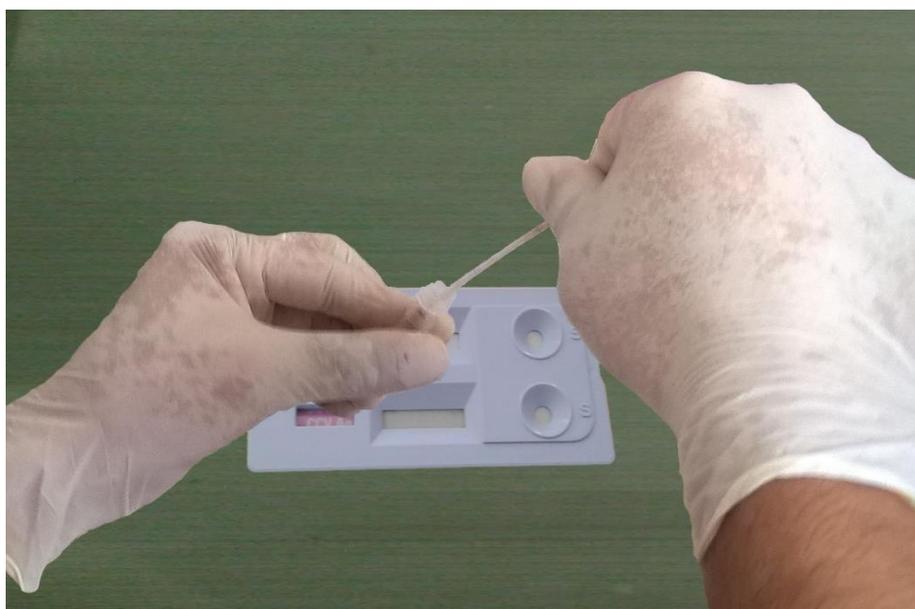


Fig. 17. Insertamos el hisopo y mezclamos la muestra con el diluyente de ensayo vigorosamente para extraer los virus en un tubo.

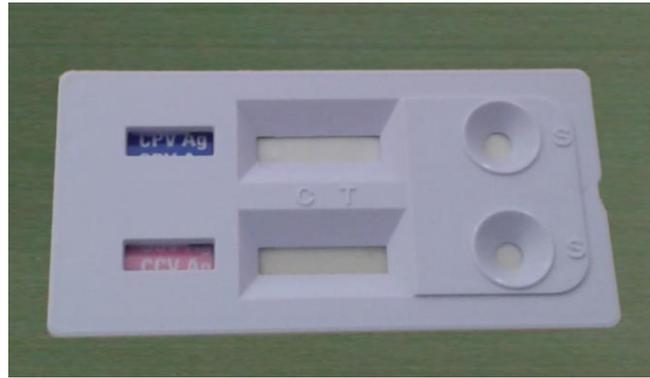


Fig. 18. Retiramos un dispositivo de prueba y colocamos sobre una superficie plana y seca.

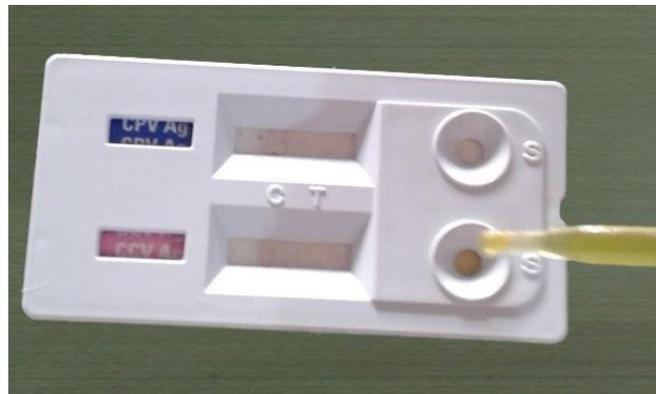


Fig. 19. Se utilizó el cuentagotas para tomar una alícuota de la muestra mezclada en el tubo. Agregamos cuatro gotas en el orificio de la muestra lentamente.

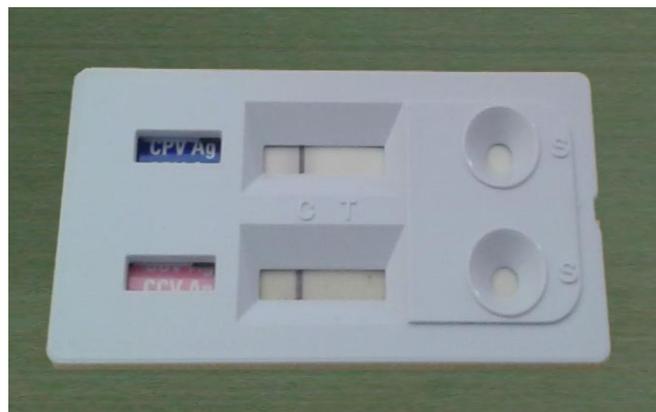


Fig. 20. Interpretación del resultado de la prueba a los 5 - 10 minutos: **Negativo a CPV y CCV.**

ANEXO 5. Diagnóstico por infección por Parvovirus y Coronavirus caninos mediante el método de inmunocromatografía - Chota – 2017.

	Frecuencia	Porcentaje
Parvovirus	12	60
Coronavirus	3	15
Negativos	5	25
Total	20	100

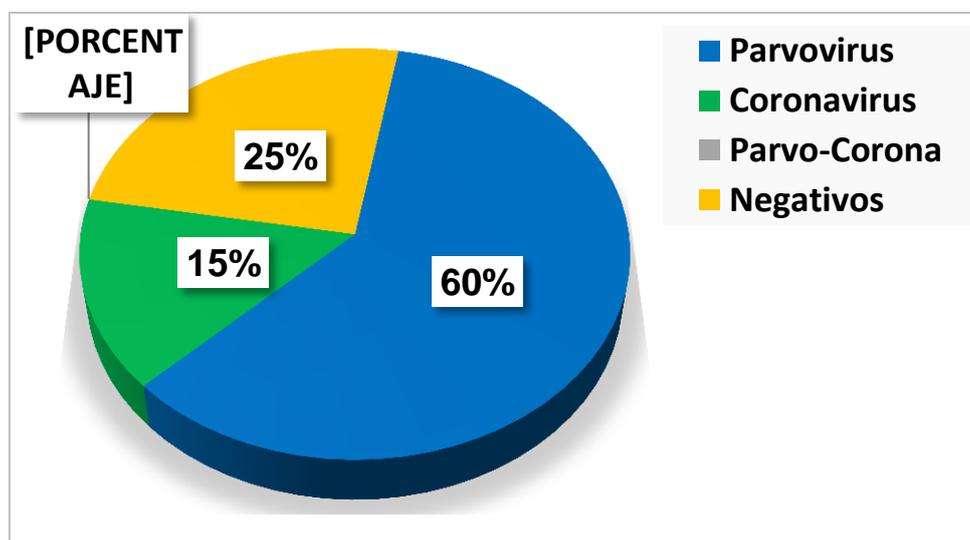


Fig. 21. Porcentaje de infección por Parvovirus y Coronavirus caninos mediante el método de inmunocromatografía- Chota – 2017.

ANEXO 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Prueba de Z de Proporciones, comparando Parvovirus y Coronavirus

Ho: $P \leq 0,15$

Ha: $P > 0,15$

Prueba de Z de proporciones

$$Z = \frac{\frac{x}{n} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$$

Donde

X = Ocurrencias son 12

n = Observaciones es 20

$\frac{x}{n}$ = Proporción de la muestra 60%

p_0 = Proporción propuesta: 15%

$\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}$ = Desviación estándar de la proporción

$$Z = \frac{0,60 - 0,15}{\sqrt{\frac{0,15(1-0,15)}{20}}} = 5,63$$

Z= 5,63

Z calculada (5,63) es mayor que 1,96. Rechazo la hipótesis nula y concluyo que la frecuencia de parvovirus es mayor que el coronavirus.

ANEXO 7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Prueba de Z de Proporciones, Parvovirus Canino comparado con el autor (Portocarrero, 2015).

Ho: $P \leq 0,55$

Ha: $P > 0,55$

Prueba de Z de proporciones

$$Z = \frac{\frac{x}{n} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$$

Donde

X = Ocurrencias son 12

n = Observaciones es 20

$\frac{x}{n}$ = Proporción de la muestra 60%

p_0 = Proporción propuesta: 55%

$\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}$ = Desviación estándar de la proporción

$$Z = \frac{0,60 - 0,55}{\sqrt{\frac{0,55(1-0,55)}{20}}} = 0,45$$

Z= 0,45

Z calculada (0,45) es menor que 1,96. Acepto la hipótesis nula y concluyo que sigue en la misma frecuencia de parvovirus, registrado en el presente estudio de investigación a lo hallado por Portocarrero (2015).

ANEXO 8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Prueba de Z de Proporciones, Coronavirus Canino comparado con el autor (Portocarrero, 2015).

Ho: $P \leq 0,05$

Ha: $P > 0,05$

Prueba de Z de proporciones

$$Z = \frac{\frac{x}{n} - p_0}{\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}}$$

Donde

X = Ocurrencias son 03

n = Observaciones es 20

$\frac{x}{n}$ = Proporción de la muestra 15%

p_0 = Proporción propuesta: 5%

$\sqrt{\frac{p_0(1-p_0)}{n}}$ = Desviación estándar de la proporción

$$Z = \frac{0,15 - 0,05}{\sqrt{\frac{0,05(1-0,05)}{20}}} = 2,05$$

Z= 2,05

Z calculada (2,05) es mayor que 1,96. Rechazo la hipótesis nula y concluyo que la frecuencia de coronavirus, registrado en el presente estudio de investigación es mayor a lo hallado por Portocarrero (2015).

ANEXO 9. Resultados obtenidos en 20 caninos con diarrea hemorrágica y sometidos a la prueba inmunocromatográfica – Chota – 2017, diagnosticados como positivos y negativos según la Edad.

EDAD	2 Meses	3 Meses	4 Meses	5 Meses	TOTAL
Parvovirus (+)	1	7	3	1	12
Coronavirus (+)	1	2	0	0	3
Negativos	0	3	2	0	5
TOTAL	2	12	5	1	20

ANEXO 10. Resultados obtenidos en 20 caninos con diarrea hemorrágica y sometidos a la prueba inmunocromatográfica – Chota – 2017, diagnosticados como positivos y negativos según el Sexo.

SEXO	Hembras	Machos	TOTAL
Parvovirus (+)	7	5	12
Coronavirus (+)	2	1	3
Negativos	3	2	5
TOTAL	12	8	20

ANEXO 11. Resultados obtenidos en 20 caninos con diarrea hemorrágica y sometidos a la prueba inmunocromatográfica – Chota – 2017, diagnosticados como positivos y negativos según la Raza.

RAZA	Parvovirus	Coronavirus	Negativos	TOTAL
Mestizo	7	2	4	13
Shar Pei	1	0	0	1
Schnauzer	1	1	0	2
Pastor Alemán	1	0	0	1
Pitbull	0	0	1	1
Pequines	2	0	0	2
TOTAL	12	3	5	20