

## **Parvovirus canino tipo 2. Artículo de Revisión Bibliográfica (Canine parvovirus type 2. Bibliographic Review Article).**

Paola Gabriela Alvarado Dávila<sup>1</sup>; Teófilo Estuardo Palacios Ordoñez<sup>2</sup>; Antonio Vallecillo Maza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>**Clínica Austrovet, Cuenca, Provincia de Azuay, Ecuador**

<sup>2</sup>**Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Campus Yanuncay, Calle 12 de octubre y Diego de Tapia, Cuenca, Provincia de Azuay, Ecuador.**

### **Correos electrónicos de los autores**

[estuardo.palacios@ucuenca.edu.ec](mailto:estuardo.palacios@ucuenca.edu.ec)

**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9486-0663>

[antonio.vallecillo@ucuenca.edu.ec](mailto:antonio.vallecillo@ucuenca.edu.ec)

**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9141-0176>

**Correo electrónico del autor para correspondencia:** pauly\_2122@hotmail.com

**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-0950-6150>

### **Resumen**

El CPV-2 constituye a nivel mundial una de las principales causas de diarrea sanguinolenta en el perro. Esta enfermedad afecta a perros jóvenes, sin distinción de sexo a partir de las seis semanas de edad al perder la inmunidad materna. Hoy en día, el perro se ha vuelto un compañero inseparable para el hombre, por ello es importante estudiar las diversas enfermedades infecciosas que son relevantes en sus vidas, entre las enfermedades virales predominantes se encuentran la infección por Parvovirus canino (CPV-2), que se transmite comúnmente por vía fecal – oral, aunque también por la vía fecal – nasal. La prueba LAMP (Amplificación isotérmica mediada por bucle) es una técnica nueva, sensible para la detección de ADN genómico, el producto final de la técnica es un precipitado blanco de pirofosfato de magnesio visible en el uso de electroforesis en gel. En el mercado existen kits de diagnóstico rápido de antígenos de CPV-2 en hisopados de heces, sin embargo, en la práctica de la medicina veterinaria diaria no existe evidencia sobre la especificidad y sensibilidad diagnóstica de dichas pruebas, razón por la cual se requiere de estudios que diagnostiquen la enfermedad en periodos más tempranos para actuar de manera eficaz en la aplicación de terapias de soporte que disminuyen la tasa de morbilidad y mortalidad. El CPV – 2, surgió a comienzos del año de 1978, diferentes clínicos de varias partes del mundo observaron de manera simultánea un gran brote de gastroenteritis severa entre grupos de perros presentándose en camadas completas e incluso colonias. La familia Parvoviridae comprende dos subfamilias, Parvovirinae que infecta a vertebrados y Densovirinae, a insectos. De las proteínas, una codifica las proteínas no estructurales que son las NS1 y NS2, y la otra que codifica las proteínas de la cápside VP1 y VP2 en donde VP2 es la principal proteína de la cápside, y es altamente antigénica. En el mercado existen kits de diagnóstico rápido de antígenos de CPV-2 en hisopados de heces, sin embargo, en la práctica de la medicina veterinaria diaria no existe evidencia sobre la especificidad y sensibilidad diagnóstica de dichas pruebas, razón por la cual se requiere de estudios que diagnostiquen la enfermedad en periodos más tempranos para actuar de manera eficaz en la aplicación de terapias de soporte disminuyendo la tasa de morbilidad y mortalidad. Razón por la cual, se revisan contenidos científicos afines a esta enfermedad y que abordan los modos de diagnosticar la misma en periodos más tempranos, para actuar de manera eficaz

en la aplicación de terapias de soporte, y disminuir la tasa de morbilidad y mortalidad, razones que constituyeron el objetivo de este artículo de revisión.

**Palabras claves:** parvovirus canino, taxonomía, clasificación, inmunización, morbilidad, terapias.

**Abstract:**

CPV-2 constitutes one of the main causes of bloody diarrhea in dogs worldwide. This disease affects young dogs, without distinction of sex from six weeks of age when they lose maternal immunity. Today, the dog has become an inseparable companion for man, so it is important to study the various infectious diseases that are relevant in their lives, among the predominant viral diseases are infection by canine Parvovirus (CPV-2), It is commonly transmitted by the fecal - oral route, but also by the fecal - nasal route. The LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) test is a new, sensitive technique for the detection of genomic DNA, the final product of the technique is a white precipitate of magnesium pyrophosphate visible in the use of gel electrophoresis. In the market there are rapid diagnostic kits for CPV-2 antigens in stool swabs, however, in the practice of daily veterinary medicine there is no evidence on the specificity and diagnostic sensitivity of these tests, which is why it is necessary to studies that diagnose the disease in earlier periods to act effectively in the application of supportive therapies that reduce the rate of morbidity and mortality. CPV - 2, emerged at the beginning of 1978, different clinicians from various parts of the world observed simultaneously a large outbreak of severe gastroenteritis among groups of dogs presenting in complete litters and even colonies. family Parvoviridae comprises two subfamilies, Parvovirinae, which infects vertebrates, and Densovirinae, which infects insects. Of the proteins, one encodes the non-structural proteins that are NS1 and NS2, and the other encodes the VP1 and VP2 capsid proteins, where VP2 is the main capsid protein and is highly antigenic. There are rapid diagnostic kits for CPV-2 antigens in stool swabs, however, in the practice of daily veterinary medicine there is no evidence on the specificity and diagnostic sensitivity of these tests, which is why studies are required to diagnose the disease in earlier periods to act effectively in the application of supportive therapies reducing the rate of morbidity and mortality. Reason for which, scientific contents related to this disease are reviewed and that address the ways of diagnosing it in earlier periods, to act effectively in the application of support therapies, and reduce the rate of morbidity and mortality, reasons that were the focus of this review article.

**Keywords:** Canine parvovirus, taxonomy, classification, immunization, morbidity, therapies.

**Introducción.**

Hoy en día, el perro se ha vuelto un compañero inseparable para el hombre, por ello es importante estudiar las diversas enfermedades infecciosas que son relevantes en sus vidas, entre las enfermedades virales predominantes se encuentran la infección por Parvovirus canina (CPV-2) (Mokhtari, Farmani, & Rajabi, 2018), que se transmite comúnmente por vía fecal – oral, aunque también por la vía fecal – nasal (Tabor, 2011).

El virus causal de esta infección está clasificado en la familia Parvoviridae, caracterizado por su tamaño pequeño, sin envoltura y de genoma ADN (Ácido desoxirribonucleico) de cadena sencilla (Flores, 1987). El primer Parvovirus descrito en perros fue el Virus diminuto canino (CPV-1, Canine parvovirus 1), que no está relacionado antigénicamente con el virus causante de la Parvovirus. El Parvovirus canino tipo 2 (CPV-2, Canine parvovirus 2). Hoy en día han sido reconocidas 3 variantes antigénicas (CPV-2a, CPV-2b, CPV-2c) que han reemplazado en su totalidad a la cepa original CPV-2, lo que demuestra, su adaptación al hospedador en un tiempo corto desde su aparición (Goddard y Leisewitz, 2010).

Los perros que no han sido vacunados frente a CPV-2 tienen el riesgo de contraer la infección; sin embargo, en los cachorros aumenta el riesgo de adquirirla entre el destete y los seis primeros meses de vida, por ello es necesario un diagnóstico temprano y rápido para poder aislar a los perros infectados y con ello evitar la propagación de la enfermedad y también para administrar un tratamiento de apoyo para reducir la morbilidad y la mortalidad (Mukhopadhyay, Amsaveni, Matta, Thanislass, Pillai, 2012).

Es difícil diagnosticar la infección por CPV-2 a partir de los signos clínicos típicos ya que son comunes de otras enfermedades. Existen algunos métodos convencionales utilizados que incluyen microscopía electrónica, aislamiento de virus, aglutinación de látex, hemaglutinación y el ensayo inmuno absorbente ligado a enzimas (ELISA). Sin embargo, la especificidad y sensibilidad diagnóstica no están claramente descritas (Sun, Yen y Tu, 2013).

La prueba LAMP (Amplificación isotérmica mediada por bucle) es una técnica nueva, sensible para la detección de ADN genómico, el producto final de la técnica es un precipitado blanco de pirofosfato de magnesio visible en el uso de electroforesis en gel. En el mercado existen kits de diagnóstico rápido de antígenos de CPV-2 en hisopados de heces, sin embargo, en la práctica de la medicina veterinaria diaria no existe evidencia sobre la especificidad y sensibilidad diagnóstica de dichas pruebas, razón por la cual se revisan contenidos científicos afines a esta enfermedad y que aborden los modos de diagnosticar la enfermedad en periodos más tempranos para actuar de manera eficaz en la aplicación de terapias de soporte, que disminuyan la tasa de morbilidad y mortalidad, razones que constituyeron el objetivo de este artículo de revisión.

## **Parvovirus canino**

El CPV-2 constituye a nivel mundial una de las principales causas de diarrea sanguinolenta en el perro (Cárdenas, García, Quiñonez, 2015), esta enfermedad afecta a perros jóvenes, sin distinción de sexo a partir de las seis semanas de edad al perder la inmunidad maternal (Durán, 2018).

### **Historia.**

El virus causante de la parvovirus canina se descubrió en los años 70 como una variante del virus de la Panleucopenia felina (FPV) denominado por Díaz, Correa, Vera (2008), El CPV – 2 surgió a comienzos del año de 1978, diferentes clínicos de varias partes del mundo observaron de manera simultánea un gran brote de gastroenteritis severa entre grupos de perros presentándose en camadas completas e incluso colonias (Carmichael, 2005), los primeros estudios que se realizaron para determinar la causa del brote concluyeron que esta nueva enfermedad era muy parecida a la (FPV) debido a los hallazgos realizados en la necropsia de varios animales infectados, junto a la sinología clínica que mostraban (Kelly, 1978), al inicio el virus se identificó como la variante CPV-2, para distinguirlo del virus no relacionado con problemas entéricos CPV-1 (Díaz, Correa, Vera, 2008).

### **Taxonomía.**

La familia Parvoviridae comprende dos subfamilias, Parvovirinae que infecta a vertebrados y Densovirinae, que afecta a insectos, las dos últimas actualizaciones propuestas por el ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) ampliaron la subfamilia Parvovirinae de 5 a 8 géneros: Amdoparvovirus, Aveparvovirus, Bocaparvovirus, Copiparvovirus, Dependoparvovirus, Eritroparvovirus, Protoparvovirus (dentro del cual se encuentra el Parvovirus canino CPV- 2), Tetraparvovirus (Cotmore, *et al.*, 2014).

## **Estructura.**

Los parvovirus son de tamaño pequeño con un diámetro aproximado de 25 nm, (Díaz, *et al.*, 2008) tiene un genoma de ADN monocatenario con una longitud de aproximadamente 5.200 nucleótidos y expresa 2 proteínas estructurales (VP1 y VP2) y 2 no estructurales (NS1 y NS2) (Parthiban *et al.*, 2012). De las proteínas, una codifica las proteínas no estructurales que son las NS1 y NS2, y la otra que codifica las proteínas de la cápside VP1 y VP2 en donde VP2 es la principal proteína de la cápside, y es altamente antigénica, desempeñando papeles importantes en la determinación de virus, intervalo de huéspedes y tropismos de tejido (Pérez, Bianchi, Calleros, Francia, Hernández, Maya, 2012).

La cápside contiene 60 copias de la combinación de las proteínas VP1 y VP2, más una tercera (VP3) que es el resultado de la escisión de VP2 por la acción de las proteasas del hospedadero, por ello está presente en viriones completos que contienen ADN del individuo afectado (Xu. *et al.*, 2015). La proteína VP2 es la encargada de permitir el ingreso del virus en el interior de la célula gracias a la interacción con el Receptor celular de la transferrina (TfR); además, si se producen leves cambios en su secuencia de aminoácidos puede variar el grado de afinidad por el receptor celular, y por lo tanto se alteraría la capacidad infectiva y el intervalo del hospedero del virus, por ello, las mutaciones que afectan a la VP2 son las responsables de la evolución de diferentes variantes antigénicas y el conocimiento de estas mutaciones podrían ser de gran ayuda para identificar las cepas emergentes de CPV-2 en un área geográfica determinada (Brito, 2017), siendo esta proteína el lugar en donde están dos epítopos antigénicos (A y B) (Reed, Jones, & Miller, 1988).

La proteína VP1 se encarga del control del transporte nuclear, tanto la proteína VP1 como la VP2 cuentan con epítopos antigénicos importantes para la neutralización de anticuerpos. NS1 es una fosfoproteína nuclear pleiotrópica que durante el proceso de replicación del ADN es la encargada de reconocer, unir y cortar el mismo, además de que regula la expresión génica y la organización del ADN en el interior de la cápside, y también actúa controlando el proceso de apoptosis celular una vez terminada la infección viral. NS2 se encuentra tanto en el núcleo como en el citoplasma, y su función consiste tanto en el ensamblaje como en la regulación de la expresión génica (Brito, 2017).

## **Evolución genética.**

El CPV-2 por sus siglas en inglés ha evolucionado con rapidez (Angulo, 2013), para esto necesitó cambios consecutivos en tres aminoácidos esenciales dentro de la región perteneciente a la depresión de la cápside que está asociada con el reconocimiento del TfR celular, el cual sirve como receptor de CPV-2 (Díaz *et al.*, 2008). La secuencia del CPV-2 se diferencia de FPV en 17 nucleótidos distribuidos por todo el genoma, pero el mayor número de cambios se concentra en la región codificante de la VP2 (Hueffer *et al.*, 2005) que sustituyó en el residuo 93 de Lys 93 por Asn y en el residuo 323 de Asp 323 por Asn, que fueron claves para introducir en el intervalo de hospedadores a los caninos y adicionalmente un intervalo de pH para hemoaglutinar y un epítipo específico para CPV-2 (Horiuchi, Goto, Ishiguro, & Shinagawa, 1994).

Se consideraba que los aislamientos de CPV-2 no eran capaces de replicarse en los gatos pero un año después de su aparición, surgió una nueva variante (Hueffer y Parris, 2003) la CPV-2a (Díaz, *et al.*, 2008) que contiene seis mutaciones en la secuencia de la VP2, en el residuo Met87 pasó a Leu, el Ile101 a Thr, el de Val103 a Ala, el de Ala300 a Gly, el de Asp305 a Tyr y el de Val55 a Ile, y existe la evidencia de que esta cepa posee mayor capacidad para infectar células caninas que su predecesora, el CPV-2 (Hueffer & Parrish, 2003), lo cual ocasionó una rápida pandemia de la cual se conocen los subtipos CPV-2a y CPV-2b (Asn426 Asp y Ile555 – Val) indicados por Decaro, *et al.*, (2006), que han sido

identificados por anticuerpos monoclonales y presentan pequeñas variaciones en las secuencias de aminoácidos de las proteínas virales.

Actualmente se ha identificado una tercera variante (CPV-2c) en Italia, Reino Unido, Alemania, Indonesia, Malasia, Uruguay y Argentina; y, en Colombia la enfermedad fue identificada por primera vez en 1982 con una alta morbilidad y mortalidad en cachorros (Díaz, *et al.*, 2008). En las últimas décadas se ha producido cambios en el residuo 297 (Ser a Ala) tanto en CPV-2a como en CPV-2c estas cepas a menudo se designan como variantes nuevas (Ohshima *et al.*, 2008).

### **Interacción virus- hospedadero**

Para obtener acceso a la célula, los virus animales han desarrollado una amplia variedad de mecanismos para enviar sus genes y proteínas accesorias a la célula blanco. Algunas explotan las vías endocíticas celulares para invadir las células diana, pero para hacer uso de estas vías, deben involucrar la unión a moléculas receptoras de la superficie celular que faciliten la endocitosis del virus (Curetón, Harbison, Cocucci, Parrish, & Kirchhausen, 2012). La unión a receptores es clave en este proceso para que se inicie el ciclo de replicación de los virus, y en muchos casos esta interacción virus- receptor determina la susceptibilidad del hospedero; así como el tropismo del tejido (Smith & Helenius, 2004).

Los virus no envueltos al realizar la interacción con el receptor celular activan una serie de pasos que llevan a la endocitosis de la partícula viral, clasificación de la partícula dentro de un compartimento endosomal para la penetración en el citoplasma y ensamblaje del virus para liberar su material genético y poder replicarse. (Palermo, Hafenstein, & Parrish, 2006).

El CPV-2 se propaga rápidamente entre los perros a través de la ruta fecal-oral (transmisión directa) o a través de la exposición oro-nasal a fómites contaminados por heces como una vía de transmisión indirecta (Durán, 2018) ingresa a la célula y comienza por la unión a los TfR celular tipo I (que facilita el ingreso de hierro a la célula al unir e internalizar la transferrina cargada con hierro), seguida de CME y el transporte a los endosomas de reciclaje (Suikkanen, Antila, Jaatinen, Vihinen-Ranta, & Vuento, 2003) se ha demostrado que son fundamentales las interacciones específicas entre la cápside viral y el TfR del hospedador para la infección proporcionando un control en el intervalo de hospedero al que afecta la infección viral, en el caso del CPV-2, los aminoácidos sustituidos que afectaron el intervalo del hospedador en variantes naturales o mutantes, incluyen los residuos de la proteína VP2: 93, 323, 299, y 300 (Palermo, *et al.*, 2006).

El CPV-2 se une al TfR mediante la triple espiga de la cápside (Hafenstein, y otros, 2007) en la célula se internaliza el virus por endocitosis dependiente de Clatrina (complejo proteico reclutado a la membrana plasmática por proteínas adaptadoras como el complejo AP-2, el cual estimula la formación de una malla), cuyo mecanismo forma vesículas de membrana dependientes de una serie de componentes estructurales, cuando la vesícula está formada, la fisión es controlada por GTPasa dinamina. Una vez separadas estas vesículas de la membrana plasmática, la capa que contiene clatrina y los adaptadores se desmontan rápidamente para permitir la fusión de la vesícula con un endosoma que posteriormente enviará el genoma viral al núcleo para iniciar la replicación (Gutiérrez & López, 2010).

Los parvovirus entregan su genoma encerrado en la cápside a la célula, atravesando el citoplasma y el núcleo con una estructura intacta, aunque con una cápside algo reordenada. La encapsidación dentro de un pequeño virión es posible porque estos virus solo codifican dos casetes de genes, y son únicos al poseer un ADN tanto lineal y monocatenario, esto hace a su cromosoma pequeño y flexible, debido a estas carencias los parvovirus

autónomos se multiplican a través de un proceso modificado de replicación en el núcleo de las células susceptibles del hospedero, para lo cual deben esperar a que la célula entre en la fase S de mitosis antes de que puedan controlar su maquinaria sintética para su propia replicación, pues requieren funciones celulares como las ADN polimerasas, entre otros componentes, además del NS1 viral (Hueffer *et al.*, 2003) como resultado, estos virus son capaces de secuestrarse en las células en reposo evitando desencadenar muchas de las respuestas celulares que suelen acompañar la entrada la célula por virus de otras familias.

Esto permite superar la desventaja de poseer una sola hebra en su ADN por la capacidad de empaquetar un genoma relativamente complejo para ser importada intacta en el núcleo de la célula (Cotmore *et al.*, 2014). Se ha demostrado que la excreción fecal del virus se da después de tres días posteriores a la inoculación experimental, y la eliminación puede continuar por un período máximo de 3 a 4 semanas después de iniciada la enfermedad clínica o subclínica, la replicación del virus comienza en el tejido linfoide de la orofaringe, nódulos linfáticos mesentéricos y el timo, y se disemina a las criptas intestinales del intestino delgado por vía hematogena (3–4 días después infección).

Se observa viremia plasmática marcada de 1 a 5 días después de la infección. Posterior a la viremia, el CPV-2 se localiza predominantemente en el revestimiento del epitelio de la lengua, la cavidad oral y el esófago; el intestino delgado, médula ósea y tejido linfoide, como el timo y nódulos linfáticos (Goddard y Leisewitz, 2010). El virus se replica en las criptas intestinales y causa pérdida de la forma en punta de la vellosidad, provocando signos como émesis y diarrea (Durán, 2018).

### **Animales susceptibles.**

La capacidad del CPV-2 de causar enfermedad parece estar limitada a la especie canina. Existen publicaciones que fundamentan la enfermedad en el perro doméstico, coyotes y ciertas variedades de lobos (Castro, 1987). Animales de todas las edades pueden contraer la infección si no poseen inmunidad o está incompleta, sin embargo, los cachorros entre 6 semanas y 6 meses son los más susceptibles de manifestar la enfermedad clínica (Pollock, & Coyne, 1993) por ello, si la madre de los cachorros tiene anticuerpos contra el CPV-2, ya sea por infección o vacunación, sus cachorros están protegidos contra la infección por el CPV-2 durante las primeras semanas de vida por los anticuerpos maternos.

El título de anticuerpos CPV-2 transferido al neonato es del 50% al 60% del título de la madre, por lo tanto, el título de anticuerpos maternos está determinado por el título de suero de la madre en el parto, la cantidad de calostro ingerido y el tamaño de la camada. El anticuerpo materno contra el CPV-2 tiene una vida media de aproximadamente 10 días, a medida que disminuye este título de anticuerpos, los cachorros se vuelven susceptibles a la infección. Una ventana de mayor susceptibilidad a la infección viral ocurre cuando el anticuerpo materno interfiere con la respuesta inmune a la vacuna de CPV-2, pero no puede proteger contra la infección por CPV-2 (Prittie, 2004), es raro en animales adultos porque ya están inmunizados por vacunación o infecciones subclínicas (Durán, 2018).

### **Factores de riesgo**

A más de la edad que constituye el mayor riesgo para contraer CPV-2 en cachorros entre las seis semanas y seis meses en donde el cuadro clínico se presenta más rápidamente, existe correspondencia en los trabajos que demuestran que los perros no vacunados tuvieron más probabilidades de presentar la enfermedad que los vacunados (Cárdenas *et al.*, 2015).

Dentro de los factores que influyen están el estrés, los parásitos y factores inespecíficos como el destete, pueden predisponer a los perros a la enfermedad clínica y al aumento de la actividad de las células mucosas. Durante el destete, los enterocitos de las criptas intestinales tienen un índice mitótico más alto debido a los cambios en la flora bacteriana y dieta, por lo tanto, son más susceptibles al tropismo viral por dividirse rápidamente las células (Goddard & Leisewitz, 2010).

### **Signos clínicos.**

El virus posee gran tropismo por los tejidos con alta división mitótica, como los de la médula ósea, órganos linfoides, criptas intestinales (Decaro, *et al.*, 2007) también se encuentran en la cavidad bucal y esófago (Goddard, & Leisewitz, 2010), al encontrarse dentro de las criptas intestinales, produce una enteritis profunda y consecuentemente diarrea. La incubación es de 3-14 días entre infección inicial y aparición de signos clínicos. Típicamente la infección por CPV-2 se da después del destete a la edad de 4 a 12 semanas, cuando los anticuerpos maternos disminuyen, sin embargo, la infección se puede ver comúnmente en cachorros de hasta 6 meses de edad.

Los signos clínicos en algunos cachorros pueden no ser aparentes, los más comunes incluyen émesis y diarrea que puede variar de mucoide a sanguinolenta. La deshidratación y la infección secundaria se desarrollan rápidamente, la diarrea puede estar ausente en fases iniciales y puede ocurrir de 24 - 48 horas después del inicio de emesis. Los motivos de consulta pueden variar desde letargia, anorexia hasta hematemesis. Los signos clínicos pueden estar exacerbados por una infección concurrente con el Virus del moquillo o Distemper canino, Coronavirus, Salmonella spp canina, y bacterias de los géneros Campylobacter, protozoarios como Giardia u otros parásitos intestinales.

Clínicamente, los animales tienen leucopenia severa, con 500 a 2000 glóbulos blancos (WBC) /  $\mu\text{L}$ . La linfopenia es más pronunciada que la neutropenia, la anemia puede estar presente pero no es una característica consistente de infección y la muerte puede ocurrir 24 horas después del inicio de los signos clínicos, especialmente en animales más jóvenes (Lamm & Rezabek, 2008). Los signos clínicos compatibles con CPV-2 son: anorexia, letargia, fiebre, emesis, diarrea y deshidratación acompañados de hipotermia, ictericia y coagulación intravascular diseminada (CID); se ven típicamente en los casos graves con sepsis bacteriana o endotoxemia (Hall, Simpson, Williams, 2012).

### **Diagnóstico**

El diagnóstico clínico de la infección por CPV-2 se basa en los antecedentes epidemiológicos, la signología clínica y en protocolos de vacunación incompletos o inexistentes (Schmitz, Coenen, König, Thiel, & Neiger, 2009) y los hallazgos del examen clínico, si existe una historia de hematemesis y diarrea en un perro joven, hace que se considere la presencia de neutropenia en el hemograma, que asociada a los signos de enteritis es sugestiva de CPV- 2. (Hall *et al.*, 2012).

La prueba de Inmuno-cromatografía diagnóstica para CPV-2 en heces se puede completar en pocos minutos y se lo realiza incluso si no hay diarrea, sin embargo, puede ser negativa si el análisis se realiza muy pronto en el curso clínico de la enfermedad o 10-14 días tras la infección (Hall *et al.*, 2012). El límite de detección de los kits diagnósticos es aproximadamente de  $10^3$  TCID 50/ml de CPV-2 en heces caninas por lo que la aplicación de este método limita la detección temprana de la enfermedad (Cho, Kang, & Young, 2006), estas pruebas detectan la presencia del antígeno en las heces, pero es posible resultados falsos positivos desde el día 3 a 10 post vacunación con una vacuna virus activo modificado por la excreción fecal del virus vacunal (Prittie, 2004).

Otras pruebas para el paciente con parvovirus incluyen el diagnóstico por imágenes, como radiografía y ultrasonido que pueden ser útiles para eliminar otras causas de vómitos y diarrea, y para determinar si la obstrucción intestinal o intususcepción está presente (Judge, 2015). También se puede utilizar la evaluación mediante microscopía electrónica de las heces en busca del virus (el CPV -1, CPV- 2), inhibición de la hemoaglutinación para la IgM sérica, histopatología de las lesiones intestinales e inmunohistoquímica de las muestras de biopsia intestinal (Hall *et al.*, 2012).

Recientemente, se ha realizado un ensayo de PCR en tiempo real, basado en la tecnología TaqMan desarrollado para la detección y cuantificación de ADN de CPV-2 en muestras fecales y se ha establecido como estándar de oro para el diagnóstico de infección por CPV-2. Hasta la fecha, un método capaz de identificar todas las variantes no está disponible y debe usarse más de un método para la caracterización de CPV-2 (Decaro *et al.*, 2006). En un estudio realizado por (Sun, Yen, & Tu, 2014) mostraron resultados en los que la combinación de 2 ensayos como PCR + ELISA podían detectar concentraciones de  $10^2$  TCID 50/ml.

Las pruebas de ELISA fecales son muy precisas, pero pueden dar resultados erróneos en ocasiones, por ejemplo: resultados falsos positivos: donde un perro no tiene CPV-2, pero el resultado es positivo: puede ocurrir entre cinco y quince días después de una vacuna y resultados falsos negativos: donde un perro tiene CPV-2, pero no da un resultado positivo, puede ocurrir si una muestra fecal se toma muy temprano en la enfermedad (dentro de uno a cuatro días de infectarse). Las pruebas que dan como resultado un falso negativo debe ser repetidas 1 a 4 días después en individuos sospechosos de tener parvovirus según la historia y los signos clínicos (Judge, 2015).

Por otro lado, LAMP es un método único de amplificación de genes, en el que el ADN puede ser amplificado utilizando solo una enzima con un simple calentador, además, se aplica en una amplia gama de campos, incluida la tipificación de polimorfismos de un solo nucleótido y la cuantificación de ADN de plantilla. Se puede sintetizar una gran cantidad de ADN (10 – 30  $\mu\text{g}/25 \mu\text{l}$ ) en poco tiempo (15 – 60 min), mientras se mantiene una alta especificidad de las reacciones LAMP (Parthiban *et al.*, 2012). Esta técnica amplifica la secuencia de ADN diana con alta selectividad; el ensayo puede completarse en 1 hora, tiene una alta sensibilidad analítica o diagnóstica y el producto final se lo puede ver a simple vista (Cho, Kang, & Young, 2006).

La técnica LAMP se puede usar como una potente prueba de diagnóstico de campo para la detección de CPV-2, ya que es menos sensible que la PCR a sustancias inhibitorias presentes en muestras biológicas en especial de heces. Este método se ha aplicado con éxito para la detección del Parvovirus porcino, Parvovirus del ganso, *Leptospira spp*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Dirofilaria immitis*, *Babesia canis* y muchos otros patógenos (Mukhopadhyay *et al.*, 2012). La técnica LAMP ofrece varias ventajas sobre los análisis de PCR para la detección de ADN de CPV-2 en heces de perros, puede amplificar algunas copias de ADN  $10^9$  moléculas aproximadamente en 1 hora bajo condiciones térmicas (Cho *et al.*, 2006). En un estudio realizado por (Sun *et al.*, 2014) se demostró que la combinación de LAMP + ELISA podía detectar un nivel de moléculas de  $10^{-1}$  TCID 50/ml.

## Tratamiento

La atención de apoyo es la piedra fundamental de la terapia para los pacientes con CPV, animales que pueden manejarse como pacientes ambulatorios son aquellos que presentan



emesis y diarrea mínima y no hay otros hallazgos clínicos significativos; por lo tanto, se recomienda dar terapia de apoyo y puede ser enviado a casa. Aquellos que requieren hospitalización y terapia intensiva presentan emesis agudas y diarrea acompañado por otros signos clínicos significativos como hipertermia, dolor abdominal agudo, deshidratación, melena, depresión severa; cuando la condición del paciente empeora o si no responde a la terapia de apoyo en un día o dos, el animal debe ser hospitalizado y recibir una evaluación más completa (Pollock y Coyne, 1993).

En la actualidad si bien no existe tratamiento específico directamente frente al virus, el tratamiento gira entorno a corregir un volumen circulatorio eficaz, controlar las infecciones bacterianas secundarias y proporcionar descanso al sistema digestivo (Huertado, 2012).

El tratamiento es de soporte y similar al de otras enteropatías infecciosas agudas graves, están indicados los fluidos y los electrolitos intravenosos, con especial atención a la repleción de potasio. La ruta intramedular puede utilizarse en cachorros muy pequeños, la vía subcutánea probablemente sea inadecuada ya que la absorción es lenta y puede tardar entre 6 a 8 horas.

Se añade una solución de Glucosa (2,5 – 5%) a los fluidos si el perro esta hipoglucémico. El plasma o los coloides (dextrano 70 o hetastarch) están indicados si la concentración de albúmina sérica está por debajo de 20 g/L. Se administra antibiótico a los perros con fiebre o con neutropenia severa. Los perros en choque séptico deberían tratarse con antibióticos de amplio espectro aeróbico y anaeróbico (por ejemplo, Ampicilina junto con Amikacina). Se ha utilizado el factor estimulante de colonias de granulocitos humano (FEC-G) a dosis de 5 ug/kg SC o IV cada 24 horas para aumentar el número de neutrófilos, pero puede que no influya en el resultado, mientras que el interferón omega ha demostrado algún beneficio. Los antieméticos, como la Proclorperazina, la Metoclopramida y el Ondasetrón, están indicados si el vómito es intratable.

La Metoclopramida es más efectiva si se administra en infusión continua a una dosis de 1 mg/kg cada 24 horas. Los protectores gástricos incluyendo los antagonistas de los receptores H2 y el Sucralfato están indicados si hay evidencia de esofagitis secundaria, deberían administrarse antihelmínticos de amplio espectro para tratar parásitos intestinales concurrentes cuando los perros ya no vomitan. Muchos perros pueden destetarse gradualmente implementando una dieta rica en proteína y altamente digerible. Sin embargo, la presencia de emesis intratable podría obligar a la administración de nutrición parenteral parcial o total (Hall *et al.*, 2012).

### **Vacunación**

La prevención más efectiva de la infección por CPV es la inmunización, que depende de la edad de inicio del calendario de vacunación para que sea más segura, el título de anticuerpos de la madre, la inmunogenicidad, el título del antígeno y de la interferencia de la vacuna con los anticuerpos maternos. Los cachorros de una perra con títulos bajos de anticuerpos, la vacunación puede ser efectiva a las 6 semanas de edad, mientras que la vacunación de cachorros de una perra con un título alto de anticuerpos debe retrasarse porque los anticuerpos de la madre pueden persistir; si el estado inmune de los cachorros es desconocido, pueden ser vacunados con un título alto usando vacunas atenuadas, cepas activas CPV a las 6, 9 y 12 semanas de edad, seguida de la revacunación anual. Los títulos de anticuerpos se pueden verificar antes de la revacunación mediante pruebas de título de anticuerpos ya que el nivel del título verifica la respuesta inmunológica a la infección, pero no garantiza la protección contra la infección (Tabor, 2011).

La frecuencia de las vacunas de refuerzo es controvertida y la concentración de anticuerpos en suero, aunque sea una medida relativa primitiva de medir la inmunidad muestra relativamente una buena correlación entre un título de anticuerpos “positivo” y una protección contra el CPV-2. Sin embargo, la ausencia de anticuerpos (un punto de decisión obvio a la hora de establecer la “necesidad” de administrar una vacuna de refuerzo) no necesariamente se correlaciona con la susceptibilidad, más aún no hay pruebas estándar establecidas para medir los títulos de anticuerpos en perros y gatos (Hall *et al.*, 2012).

### **Principios de validación para las pruebas de diagnóstico de enfermedades infecciosas.**

La validación consiste en la evaluación de un proceso a fin de determinar su idoneidad para un uso particular, es posible validar una prueba para uno o varios propósitos mejorando las características de su realización en cada caso, por ejemplo, elevando el nivel de sensibilidad de diagnóstico hasta en un 99,99% y disminuyendo su especificidad, estableciendo de esta forma una alta especificidad asociada a un bajo nivel de sensibilidad en una prueba confirmativa.

Las variables que pueden afectar a la realización de un ensayo son:

- a. La muestra.
- b. El sistema de ensayo (factores físicos, químicos, biológicos y técnicos que afectan la capacidad de la prueba para detectar en la muestra un componente específico).
- c. Resultado de la prueba.

Los factores que influyen en la capacidad del resultado de una prueba para predecir de forma precisa la infección o el nivel de un componente analizado en el hospedador son la sensibilidad del diagnóstico, la especificidad del mismo, y la prevalencia de la enfermedad en la población objeto de la prueba. La sensibilidad y especificidad diagnóstica derivan de pruebas con muestras obtenidas de animales de referencia previamente seleccionados.

La capacidad del resultado positivo o negativo de una prueba para predecir de forma precisa el estado de un animal o población con respecto a una infección es la consideración más importante para la validación de un ensayo, esta capacidad no solo depende de un ensayo preciso y muy fiable, y de estimaciones cuidadosamente obtenidas acerca de la sensibilidad y la especificidad de diagnóstico, sino que también está influenciada por la prevalencia de la infección en la población sometida a análisis o por la probabilidad de que un animal está infectado según criterios clínicos.

### **Conclusiones**

La prevención más efectiva de la infección por CPV es la inmunización, y el nivel del título de anticuerpos de la madre, la inmunogenicidad, el título del antígeno y de la interferencia de la vacuna con los anticuerpos maternos y si el estado inmune de los cachorros es desconocido, pueden ser vacunados con un título alto con vacunas atenuadas, cepas activas CPV a las 6, 9 y 12 semanas de edad, seguida de la revacunación anual. Los títulos de anticuerpos se pueden verificar antes de la revacunación mediante pruebas de título de anticuerpos ya que el nivel del título verifica la respuesta inmunológica a la infección.

### **Conflicto de intereses**

No hubo conflicto de intereses entre los integrantes de la investigación para la revisión de la literatura científica del tema y la redacción de este artículo reseña.

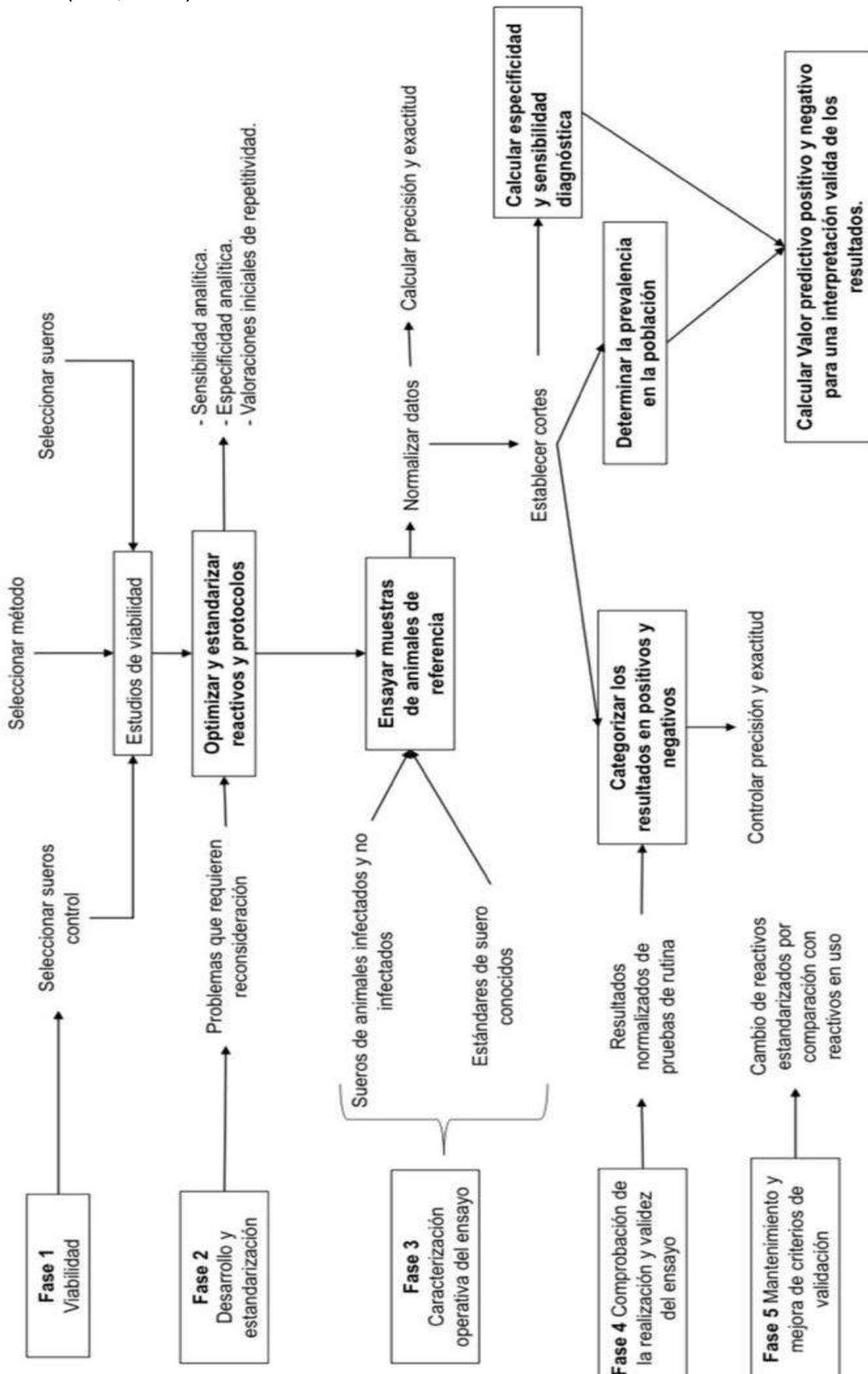
### **Agradecimientos**

Se agradece a varios autores temáticos que nos facilitaron artículos científicos actuales del tema.

# Anexos

Figura 1. Fases consecutivas del proceso de validación de un ensayo.

Fuente: (OIE, 2004).



## Referencias bibliográficas

- Brito, L. V. E. *Determinación de las variantes antigénicas del Parvovirus canino tipo 2 (CPV-2) en caninos de la ciudad de Quito.* , 2 § (2017).
- Cárdenas, J. W. A., García-díaz, J. R., & Quiñonez-ramos, R. (2015). *Factores de riesgo asociados a la Parvovirus Canina en el Cantón.* 37(3), 183–190.
- Carmichael, L. E. (2005). An annotated historical account of canine parvovirus. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 303 - 311.
- Castro, R. F. (1987). Parvovirus Canina Y Aspectos De Inmunización. *Ciencia Veterinaria.*
- Cho, H. -S., Kang, J. -I., & Young, P. N. (2006). Detection of canine parvovirus in fecal samples using loop-mediated isothermal amplification. *Vet Diagn Invest*, 81 - 84.
- Cotmore, S. F., Agbandje-McKenna, M., Chiorini, J. A., Mukha, D. V., Pintel, D. J., Qiu, J., . . . Davison, A. J. (2014). The family Parvoviridae. *Pub Med*, 1239 - 1247.
- Cureton, D. K., Harbison, C. E., Cocucci, E., Parrish, C. R., & Kirchhausen, T. (2012). Limited Transferrin Receptor Clustering Allows Rapid Diffusion of Canine Parvovirus into Clathrin Endocytic Structures. *Journal Virology*, 5330-5340.
- Decaro, N., Elia, G., Martella, V., Campolo, M., Desario, C., Camero, M., ... Buonavoglia, C. (2006). Characterisation of the canine parvovirus type 2 variants using minor groove binder probe technology. *Journal of Virological Methods*, 133(1), 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.10.026>
- Díaz Rojas, C., Correa, J., & Vera Alfonso, V. (2008). Aspectos moleculares del virus de la parvovirus canina y sus implicaciones en la enfermedad. *Revista de Medicina Veterinaria*, (15), 57–65. <https://doi.org/10.19052/mv.1455>
- Durán Felipe. (2018). *Enfermedades en perros y gatos.* Colombia.
- Flores, R. (1987). parvovirus canina y aspectos de inmunización. *Ciencias Veterinarias*, 131-159.
- Gutiérrez, M., & López, S. (2010). Mecanismos de entrada de virus: Una manera de conocer la célula . *Scielo*, 26-34.
- Goddard, A., & Leisewitz, A. L. (2010). Canine Parvovirus. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 40(6), 1041–1053. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.07.007>
- Hafenstein, LM, P., VA, K., C, X., MC, M., CD, N., . . . MG, R. (2007). Asymmetric binding of transferrin receptor to parvovirus capsids. *Europe PMC*, 6585-6589.
- Hall, E. J., Simpson, J. W., & Williams, D. A. (2012). *Manual de Gastroenterología en pequeños animales.*
- Horiuchi, M., Goto, H., Ishiguro, N., & Shinagawa, M. (1994). Mapping of determinants of the host range for canine cells in the genome of canine parvovirus using canine parvovirus/mink enteritis virus chimeric viruses. *J Gen Virol*, 1319 - 1328.
- Hueffer, K., & Parrish, C. R. (2003). Parvovirus host range cell tropism and evolution. *Curr Opin Microbiol*, 392- 398.
- Hueffer, K., Parker, J. S., Weichert, W. S., Geisel, R. E., Sgro, J.-Y., & Parrish, C. R. (2005). The natural host range shift and subsequent evolution of canine parvovirus resulted from virus-specific binding to the canine transferrin receptor. *J Virol*, 1718-1726.
- Huertado, D. (2012). *Nueva perspectiva de la parvovirus canina en el sur del Valle de Aburra.* (August), 32.
- Judge, P. (2015). Management of the Patient with Canine Parvovirus Enteritis. *Vet Education*, 5–11.
- Kelly, W. R. (1978). An enteric disease of dogs resembling feline panleucopaenia. *Aust Vet J*, 54: 593.

- Lamm, C. G., & Rezabek, G. B. (2008). Parvovirus Infection in Domestic Companion Animals. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 38(4), 837–850. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2008.03.008>.
- Mokhtari, A., Farmani, N., & Rajabi, M. (2018). *Detection of Canine Parvovirus by PCR and its association with some of risk factors Detección de parvovirus canino por PCR y su asociación con*. 23(2), 6607–6616. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1334>.
- Mukhopadhyay, H. K., Amsaveni, S., Matta, S. L., Antony, P. X., Thanislass, J., & Pillai, R. M. (2012). *Development and evaluation of loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and sensitive detection of canine parvovirus DNA directly in faecal specimens*. 202–209. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2012.03284.x>
- Ohshima, T., Hisaka, M., Kawakami, K., Kishi, M., Tohya, Y., & Mochizuki, M. (2008). Chronological analysis of canine parvovirus type 2 isolates in Japan. *J Vet Med Sci*, 765-775.
- Palermo, L. M., Hafenstein, S. L., & Parrish, C. R. (2006). Purified feline and canine transferrin receptors reveal complex interactions with the capsids of canine and feline parvoviruses that correspond to their host ranges. *J Virol*, 8482- 8492.
- Parthiban, M., Divya, K. C., Kumanan, K., & Bargavi, D. S. (2012). *A rapid and highly reliable field-based LAMP assay of canine parvovirus*. 71–74. <https://doi.org/10.4149/av>
- Pérez, R., Bianchi, P., Calleros, L., Francia, L., Hernández, M., Maya, L., ... Zoller, S. (2012). Recent spreading of a divergent canine parvovirus type 2a (CPV-2a) strain in a CPV-2c homogenous population. *Veterinary Microbiology*, 155(2–4), 214–219. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.09.017>
- Pollock, R. V. H., & Coyne, M. J. (1993). Canine parvovirus. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 23(3), 555–568. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(93\)50305-4](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(93)50305-4).
- Prittie, J. (2004). Canine parvoviral enteritis: A review of diagnosis, management, and prevention. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 14(3), 167–176. <https://doi.org/10.1111/j.1534-6935.2004.04020.x>.
- Reed, A. P., Jones, E. V., & Miller, T. J. (1988). Nucleotide sequence and genome organization of canine parvovirus. *J Virol*, 266 - 276.
- Schmitz, S., Coenen, C., König, M., Thiel, H.-J., & Neiger, R. (2009). Comparison of three rapid commercial Canine parvovirus antigen detection tests with electron microscopy and polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest*, 344-345.
- Smith, A. E., & Helenius, A. (2004). How Viruses Enter Animal Cells. *Science*, 237-242.
- Suikkanen, S., Antila, M., Jaatinen, A., Vihinen-Ranta, M., & Vuento, M. (2003). Release of canine parvovirus from endocytic vesicles. *Virology*, 267-280.
- Sun, Y. L., Yen, C. -H., & Tu, C. -F. (2014). Visual Detection of Canine Parvovirus Based on Loop-Mediated Isothermal Amplification Combined with Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and with Lateral Flow Dipstick. *Full paper Virology*, 509 - 516.
- Tabor, B. (2011). Canine parvovirus. *Veterinary Technician*, 32(5), 1–10. <https://doi.org/10.1201/b19719-81>
- Xu, J., Guo, H.-C., Wei, Y.-Q., Shu, L., Wang, J., Li, J.-S., . . . Sun, S.-Q. (2015). Phylogenetic Analysis of Canine Parvovirus Isolates from Sichuan and Gansu Provinces of China on 2011. *Transbound Emerg Dis*, 91 - 95.

**Recibido:** 10 de febrero de 2021

**Aceptado:** 15 de mayo de 2021