



**Facultad de Ciencias Veterinarias**

**-UNCPBA-**

**Detección de antígeno del virus del Moquillo Canino en fase aguda.**

**Barengo, Federico; Pérez, Rosa Elizabeth; Nieto Farías, María Victoria**

**Marzo, 2018**

**Tandil**

# **Detección de antígeno del virus del Moquillo Canino en fase aguda**

Tesina de la Orientación de Sanidad Animal, presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Veterinario del estudiante: Barengo, Federico.

Tutor: **MV, Pérez Rosa Elizabeth**

Director: **MV, Nieto Farías, María Victoria**

Evaluador: **Dra. Etcheverría, Analía**

## **Agradecimientos**

A mi familia y amigos por brindarme apoyo incondicional a lo largo de toda esta trayectoria.

A Fernando Romero, Agustín Romero y Rosa Elizabeth Pérez por sus enseñanzas y predisposición.

A María Victoria Nieto Farías por su compromiso, predisposición y dedicación durante el transcurso de la tesina.

A la Facultad de Ciencias Veterinarias y los docentes de Medicina Veterinaria.

## RESUMEN

En la presente tesina se desarrollará un caso clínico sobre detección de antígenos del virus de Moquillo Canino, en la fase aguda de la enfermedad. Este virus puede infectar a perros de todas las edades y razas, siendo los cachorros los más afectados. Su diseminación es a través de las secreciones biológicas, siendo la puerta de entrada el epitelio respiratorio superior. Afecta principalmente a linfocitos y macrófagos, generando como resultado una fuerte inmunosupresión. Los signos más comunes son hipertermia, secreción ocular y nasal, anorexia, y en los casos más severos, convulsiones. La prueba de inmunocromatografía se puede utilizar para diagnóstico precoz de la infección por este virus, a partir de hisopados conjuntivales. El objetivo de este trabajo es demostrar la presencia del virus del Moquillo a través de la inmunocromatografía, para poder obtener un diagnóstico temprano de la infección en la clínica diaria.

Palabras clave: Moquillo canino, inmunocromatografía, diagnóstico confirmatorio.

# ÍNDICE

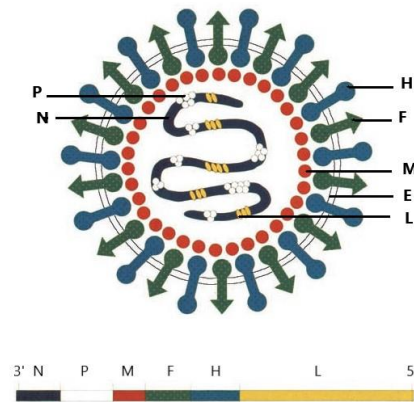
1) INTRODUCCIÓN.....	1
1.1) Breve reseña del agente y de la enfermedad.....	1
1.2) Mecanismo de transmisión y epidemiología.....	3
1.3) Patogenia.....	5
1.4) Signos clínicos.....	6
1.5) Diagnóstico.....	9
1.5.1) Diagnóstico diferencial.....	15
1.6) Tratamiento.....	15
1.7) Prevención y control.....	16
2) CASO CLÍNICO.....	19
2.1) Reseña de animal.....	19
2.2) Semiología clínica.....	19
2.3) Métodos complementarios.....	20
2.4) Interpretación clínico-patológica.....	22
2.5) Tratamiento.....	22
2.6) Pronóstico.....	22
3) Conclusión.....	23
4) Bibliografía.....	24

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 BREVE RESEÑA DEL AGENTE Y DE LA ENFERMEDAD

El virus del moquillo canino (VMC), también conocido como distemper canino, es el agente causal de una enfermedad sistémica altamente contagiosa de curso agudo que afecta principalmente a los perros, y a especies silvestres como zorros, zorrinos, lobos y hurones.

Es miembro de la familia Paramyxoviridae y pertenece al género Morbillivirus. Contiene una nucleocápside de simetría helicoidal, de aproximadamente 1 micrón de largo y 18 nm de ancho. El genoma de este virus está conformado por una cadena simple de ARN de sentido negativo. Las proteínas del virión incluyen 3 proteínas de nucleocápside: la proteína de unión al ARN (N), una fosfoproteína (P) y una proteína polimerasa (L). Las proteínas del virión que se asocian a membrana incluyen una proteína de fusión (F), una hemaglutinina (H) y la proteína de matriz (M). Las dos primeras conforman las espículas (peplómeros) de la envoltura viral, esenciales para la adhesión a la célula hospedadora. La proteína M es la más abundante en el virión, y tiene un papel central en el ensamble de los viriones maduros, brindándoles un enlace estructural entre las glicoproteínas de la envoltura y la ribonucleoproteína. Otra función importante de esta proteína es controlar los niveles de síntesis de ARNm (Maclachlan et al., 2011).



**FIG. 1** Estructura del Virus del Moquillo Canino: (E, envoltura lipídica; F, proteína de fusión; H, hemaglutinina; L, proteína polimerasa; M, proteína de matriz; N, nucleocápside; P, fosfoproteína) (Greene, 2012).

La replicación del VMC tiene lugar en el citoplasma. La hemaglutinina y la proteína de fusión tienen un papel fundamental en la patogénesis de la infección; la primera es responsable de la unión a la célula, mientras que la segunda, media la fusión entre la envoltura viral con la membrana plasmática de la célula hospedadora a pH fisiológico. A continuación, la nucleocápside permanece intacta junto a sus proteínas asociadas (N, P y L), ya que estas son esenciales para la transcripción de ARN genómico viral, por la ARN polimerasa ARN dependiente (proteína L) (Maclachlan et al., 2011).

El complejo polimerasa inicia la síntesis de ARN en un solo sitio sobre el extremo 3' del ARN genómico. Gracias a este proceso se genera una cadena de ARN anti genómica completa de sentido positivo, la cual sirve como molde para la producción de ARN genómico de sentido negativo. A continuación, se inicia una segunda fase de síntesis de ARNm a partir del nuevo ARN genómico, amplificando así la síntesis de proteínas virales (Maclachlan et al., 2011).

El ARN neoformado se asocia con las proteínas de la nucleocápside que fueron producidas en exceso y al acumularse en el citoplasma forman los cuerpos de inclusión característicos. Aunque la replicación es enteramente citoplasmática los morbilivirus también producen inclusiones intranucleares que comprenden elementos nucleares y proteína N (Maclachlan et al., 2011).

Los viriones que van a ser liberados pasan por un proceso de maduración: en primer lugar, se incorporan las glicoproteínas virales junto con la membrana plasmática de la célula hospedadora que será la futura envoltura lipídica. Luego tiene lugar la asociación de la proteína de matriz y otras proteínas no glicosiladas. A continuación, se produce la alineación de la nucleocápside debajo de la proteína M, y por último la formación y liberación a través de la gemación de viriones maduros (Maclachlan et al., 2011).

Los animales de todas las edades y razas son susceptibles a la infección por el virus del distemper. Sin embargo, los animales no vacunados, o los que han desarrollado inmunidad incompleta son los más predispuestos a enfermarse (Ettinger, 2010). El período de incubación básico del VMC tiene un rango entre 1 a 3 semanas y no todos los animales lo manifiestan clínicamente, por lo tanto, quienes se encuentran infectados en forma subclínica también son diseminadores del virus a través de sus secreciones (Couto, 2000; Ettinger, 2010). Los signos clínicos más frecuentes son depresión, secreción ocular, tos, vómitos, diarrea y signos neurológicos (Couto, 2000). El diagnóstico de esta enfermedad es a menudo presuntivo, basándose en la anamnesis del paciente junto a los signos clínicos manifestados. El pronóstico de esta enfermedad suele ser de reservado a malo, sobre todo cuando hay signos neurológicos presentes (Greene, 2012).

La prevalencia de moquillo en perros incrementa entre 3 a 6 meses de edad, correlacionándose con la caída de anticuerpos maternos en cachorros (Ettinger, 2010).

## **1.2 MECANISMO DE TRANSMISIÓN Y EPIDEMIOLOGIA**

A nivel mundial, ha sido asociado a brotes en varios parques nacionales de diferentes países, disminuyendo drásticamente la población del zorro cangrejero en Argentina y Brasil, el perro mapache en Japón, y zorro gris en EE. UU. Además, a este virus se lo relaciona con la extinción del perro salvaje y poblaciones de hurones de África, y podría representar una amenaza para el lobo de Etiopía (Cohen, 2013). En la práctica



veterinaria de Estados Unidos no es frecuente ver brotes de moquillo, los cuales si suceden en instalaciones de refugio donde transitan animales no vacunados y animales salvajes deambulantes. Por este motivo, a pesar de que hace más de 50 años que se vacunan perros contra el moquillo, esta enfermedad aún conserva prevalencia en muchas comunidades (Ettinger, 2010). Si bien en otros países los animales salvajes son considerados el reservorio para este virus, en Argentina y gran parte de Sudamérica, la principal fuente de reserva son los perros callejeros (Cohen, 2013).

Un estudio epidemiológico sobre Moquillo Canino fue realizado en la ciudad de Santa Fe, Argentina, entre los años 1998 y 2009, contando con un total de 131 caninos. La información obtenida concierne a la presentación de los diferentes signos clínicos de la enfermedad, y la distribución de la frecuencia de casos clínicos por mes, estación climática, sexo, tamaño corporal y edad. Los signos clínicos de hipertermia, anorexia, y secreciones respiratorias y oculares se presentaron en más del 80% de los casos. La anorexia, blefaritis y descarga ocular ocurrió en 96,18%, 97,71% y 88,55% respectivamente. Aunque no hubo cambios en el tamaño de la población susceptible a lo largo de los años, la incidencia de la enfermedad fue la más alta entre los meses de junio (9,02%) y noviembre (22,95%) y entre invierno (33,61%) y primavera (34,43%). La mayoría de los casos clínicos fueron observados en perros menores de dos años (42,31%), en machos (42,31%) y animales de gran tamaño (73,64%) (Pinotti, 2012).

La transmisión del VMC es vía contacto directo, gotas y aerosoles al toser y estornudar, ya que el virus no es estable en el ambiente. También se puede transmitir a través de vómitos, heces, orina y fomites ambientales a partir del día 5 post infección, lo cual es antes del comienzo de los signos clínicos y se continúa por varias semanas (Ettinger, 2010; Maclachlan, 2011).

El VMC, es abundante en los exudados respiratorios y puede ser aislado a partir de la mayoría de las excreciones del cuerpo, incluyendo la orina. El contacto entre perros recién infectados (subclínico o clínico) mantiene el virus en una población, y la constante presencia de cachorros provee de una población susceptible para mantener

la enfermedad (Greene, 2012). Los datos sugieren que hasta el 75% de los perros infectados tienen un proceso subclínico autolimitante (Couto, 2000).

### **1.3 PATOGENIA**

El VMC, como otros morbillivirus, infecta células que expresan un receptor similar al CD150 de humanos, llamado molécula de activación linfocítica de señalización (SLAM, en inglés), la cual se encuentra presente en timocitos, linfocitos activados, macrófagos y células dendríticas. La infección de las células epiteliales en pulmones, vejiga y la piel ocurre relativamente tarde en el proceso de infección. Estas células no poseen SLAM y el receptor que facilita la entrada a la célula no ha sido definido. El sistema nervioso central también es infectado de forma tardía, siendo las células neuronales y las gliales las afectadas. Esta última diseminación solo sucede en perros que no desarrollaron una respuesta inmune lo suficientemente rápido para prevenirla (Maclachlan, 2011).

Las gotas de aerosol contaminadas contactan con el epitelio del tracto respiratorio superior. Luego de 24 horas post infección (PI) multiplican en los macrófagos locales, y se diseminan dentro de estas células por vía linfática hacia tonsilas y linfonodos bronquiales (Greene, 2012).

Hacia los días 4 a 6 PI la multiplicación del virus se lleva a cabo en los folículos linfoides del bazo, tejido linfoide asociado a mucosas (MALT), linfonodos mesentéricos, médula ósea y células de Kupffer en hígado. Esta extensa proliferación se corresponde con la elevación de la temperatura y leucopenia. La inmunosupresión ocurre no solo debido a la citólisis inducida por el virus, sino también debido a que los VMC inhiben el interferón  $\gamma$  y la respuesta celular de las células linfoides a las citoquinas, a través de la expresión del gen P de virulencia, y proteínas V y C (Greene, 2012).

En los días 8 -9 PI el virus realiza una segunda viremia asociada a células alcanzando tejidos epiteliales de los ojos y la piel, y el SNC. Una vez que ha tomado contacto con estos tejidos, el virus comienza a excretarse en las secreciones corporales. Entre los días 9 -14 PI, el resultado clínico de la infección depende de la fortaleza y del tipo de

respuesta inmune montada, así como también de la cepa viral actuante y de la presencia o no, de infección bacteriana secundaria (Greene, 2012).

Los perros que posean una respuesta inmune pobre desarrollan infección viral en varios tejidos adicionales incluyendo piel, glándulas y órganos epiteliales. Estos animales generalmente exhiben signos clínicos severos y, probablemente, mueran como resultado de la infección. Aquellos animales que se recuperan de los signos clínicos iniciales mantienen el virus en tejidos y son predisponentes a desarrollar signos clínicos de enfermedad del SNC, conocida como encefalitis del perro viejo (Ettinger, 2010).

En animales con niveles intermedios de inmunidad, se puede desarrollar una infección leve o subclínica, y el virus persiste en pulmones, piel y SNC. Estos animales pueden recuperarse completamente o pueden desarrollar signos clínicos de enfermedad del SNC (Ettinger, 2010).

Animales que montan una fuerte respuesta inmune y citotoxicidad mediada por células, eliminan el virus de la mayoría de los tejidos y tienen pocas probabilidades de desarrollar signos clínicos de infección sistémica, pero pueden desarrollar signos de clínicos de enfermedad del SNC (Ettinger, 2010; Greene, 2012).

Por otra parte, la patogenia de la enfermedad neurológica en perros infectados con VMC es compleja. Los perros, especialmente los jóvenes y los inmunosuprimidos, pueden desarrollar desmielinización aguda atribuida directamente a la lesión que genera el virus, sin la presencia de reacción inflamatoria. La encefalitis crónica parece ser consecuencia de la respuesta inflamatoria a los antígenos virales en las células de SNC, con activación de macrófagos y liberación de mediadores citotóxicos, siendo los mismos, principales participantes en la destrucción y desmielinización de las células del SNC (Greene, 2012).

#### **1.4 SIGNOS CLÍNICOS**

La severidad de los signos clínicos varía según la edad del animal al momento de la infección, la virulencia de la cepa viral actuante y el estado inmunitario del animal. Muchos perros, particularmente los adultos, o los que tienen una inmunidad parcial,

tienen una enfermedad asintomática o leve. Los cachorros, que son más propensos a sufrir una enfermedad más severa y prolongada, tienen el más alto índice de mortalidad (Ettinger, 2010; Greene, 2012).

La fiebre inicial suele pasar desapercibida, y por esta razón, el primer signo de infección observado es una leve conjuntivitis, que pasa de serosa a mucopurulenta. Esto puede ser acompañado por la presentación de tos seca, que con el pasar de los días se convierte en húmeda y productiva con incremento de los sonidos respiratorios a la auscultación (Greene, 2012). Algunos perros que han desarrollado un cuadro respiratorio leve suelen exhibir signos que son indistinguibles de otras causas, como la tos de las perreras (Ettinger, 2010; Greene, 2012).

Los perros afectados pueden presentar letargia, anorexia, deshidratación, fiebre, descarga óculo-nasal y tos progresiva que empeora si no existe una respuesta inmune inadecuada (Ettinger, 2010; Greene, 2012). Las infecciones bacterianas secundarias son muy comunes en esta enfermedad, y suelen complicar el cuadro. Estas infecciones pueden conducir a una neumonía con el riesgo de complicar el cuadro y convertirse en una amenaza para la vida de los cachorros. Otros signos comúnmente presentes son los vómitos y diarrea. Esta última puede ser desde mucoide a hemorrágica, y se debe a la masiva replicación del virus en el epitelio gastrointestinal. La infección del epitelio ocular puede causar fotofobia, uveítis anterior y coriorretinitis (Ettinger, 2010). Los animales recuperados pueden tener lesiones retinales como atrofia retinal y cicatrización de las glándulas lagrimales, que dan origen a queratitis seca. La neuritis óptica puede causar ceguera o midriasis; la primera puede incluso resultar a partir de graves desprendimientos de retina (Ettinger, 2010).

La replicación viral en el tracto urinario puede causar signos clínicos asociados a disfunción renal. La infección viral de la piel puede resultar con erupción cutánea e hiperqueratosis del plano nasal y almohadillas plantares (Ettinger, 2010).



FIG 2: Izquierda, Hiperqueratosis del plano nasal en perro con moquillo sistémico. Derecha, hiperqueratosis de las almohadillas plantares en perro muriendo a causa de encefalitis por VMC (Greene, 2012).

En cachorros que han sido infectados antes de la erupción los dientes permanentes es común hallar erupción parcial, oligodoncia, impacción dental, hipoplasia de esmalte, presentando manchas y deformaciones de estos (Ettinger, 2010; Greene, 2012).



FIG 3: Hipoplasia de esmalte, irregularidades de la superficie dental en perro adulto que sobrevivió a infección neonatal del virus del Moquillo Canino (Greene, 2012).

Los signos neurológicos pueden desarrollarse a partir de 1 a 3 semanas después de la recuperación de los signos sistémicos o puede desarrollarse meses después. Los signos neurológicos se pueden desarrollar en perros que no presentaron signos sistémicos de la enfermedad. Existen ciertas características de la enfermedad clínica que tienden a correlacionarse con la posibilidad de desarrollar enfermedad neurológica. La hiperqueratosis del plano nasal y de las almohadillas digitales esta frecuentemente asociada con el desarrollo de signos neurológicos. Las manifestaciones clínicas más comunes que éstas generan incluyen convulsiones, ataxia, hipermetría, para-paresis o

tetra-paresis. La presencia de mioclonías, ya sean generalizadas o focales, es un signo clínico fuertemente sugestivo de infección por VMC (Ettinger, 2010).

Los cachorros infectados durante la gestación y los neonatos pueden desarrollar signos del SNC a temprana edad. Se ha registrado aborto y muerte neonatal en cachorros de perras que han desarrollado la enfermedad durante el período gestacional (Ettinger, 2010).

## 1.5 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de Moquillo Canino se facilita cuando hay signos clínicos compatibles y el paciente cuenta con un plan vacunal incompleto (Couto, 2000; Ettinger, 2010). Gran parte de los perros con enfermedad severa expresan signos distintivos suficientes como para hacer un diagnóstico presuntivo, pero en perros adultos las infecciones respiratorias son frecuentemente confundidas con traqueo bronquitis infecciosa canina (Greene, 2012).

Las pruebas de laboratorio no siempre confirman la sospecha de infección por VMC ya que no hay anomalías de laboratorio patognomónicas de esta enfermedad (Ettinger, 2010; Greene, 2012). La anomalía hematológica más constante es la linfopenia, causada por la depleción linfoide. Esto frecuentemente persiste en perros muy jóvenes con rápido progreso de los signos sistémicos o neurológicos (Couto, 2000; Ettinger, 2010; Greene, 2012). Los cambios encontrados en los estudios de bioquímica sérica de los animales con moquillo en su fase aguda son inespecíficos. La concentración de albúmina se encuentra decrecida, junto con la alfa y gamma globulina, debido a la inmunosupresión persistente causada por el virus (Greene, 2012). El LCR puede tener incremento en linfocitos y monocitos, y de las proteínas, pero solo es indicativo de un proceso de encefalitis, y no es específica de moquillo (Couto, 2000; Ettinger, 2010).

El diagnóstico definitivo del VMC depende de la detección del antígeno viral o del ácido nucleico en muestras *antemortem* o *post-mortem*, aislamiento viral y serología. La demostración del antígeno viral en células en frotis sanguíneo, frotis nasal, hisopados

conjuntivales o faríngeos, o métodos inmunológicos de tejidos *post-mortem* como anticuerpo fluorescente, o prueba inmunohistoquímica, confirman el diagnóstico, pero están sujetos a resultados falsos negativos si se realizan más allá de 3 semanas post infección (Ettinger, 2010).

### INMUNOCROMATOGRAFÍA

Las pruebas de inmunocromatografía se están empleando cada vez más a menudo, ya que son pruebas rápidas y de lectura sencilla (Tizard, 2013). Este método diagnóstico consiste en la demostración de antígenos virales obtenidos a partir de hisopados conjuntivales y vaginales, lavajes traqueales e incluso a partir de sedimento urinario (Dong jun An, et al., 2007). El antígeno que detecta este método es la proteína F de fusión (información cedida gentilmente por el laboratorio Medica-Tec). La técnica consta de una banda porosa por donde debe fluir la muestra problema. Ésta debe atravesar una zona donde se encuentra anticuerpos marcados y desecados, y al contactar con los antígenos, se solubilizan y forman inmunocomplejos. El líquido que contiene los inmunocomplejos después fluye a través de la zona de detección cuya función es capturar a los inmunocomplejos. El caso de resultado positivo, se desarrolla una línea rosa (si el anticuerpo está marcado con oro coloidal) o azul (si el anticuerpo está marcado con selenio coloidal) en la zona de detección (Tizard, 2013).



FIG 4: Inmunocromatografía. Una muestra que contiene el antígeno atraviesa una tira porosa, y reacciones positivas se muestran por la aparición de una banda de color (Tizard, 2013).

El procedimiento consta de un solo paso y es tan simple, que permite análisis de múltiples muestras a la vez. Otros test de inmunocromatografía incluyen la aplicación de un pre-filtro eficaz, para poder utilizar sangre entera, y son utilizados para la detección de dirofilarias o de antígenos de Leucemia felina (Tizard, 2013).

Esta técnica puede ser utilizada para proveer de un tratamiento médico a tiempo que busque preservar la vida del paciente infectado, especialmente si tiene signos neurológicos. Es importante, contar con una prueba sencilla que pueda detectar rápidamente y en forma específica la infección por VMC. Contando con una herramienta como esta, no solo ayuda a excluir otros diagnósticos, sino también, prevenir la diseminación de esta importante enfermedad (Dong-Jun An, et al., 2007).

Un estudio sobre la sensibilidad y especificidad de esta prueba en comparación con la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) utilizando hisopados conjuntivales, fluido de irrigación nasal y linfocitos sanguíneos, como toma de muestra de perros sospechados de estar infectados con Moquillo, revelo datos interesantes. En este estudio la prueba de inmunocromatografía para detectar Ag virales de moquillo alcanzó valores de 90.8% de sensibilidad y 97.8% de especificidad a partir de todos los tipos de muestras utilizadas. En particular, al utilizar las muestras a partir de hisopados conjuntivales reveló resultados de 100% de sensibilidad y especificidad, en comparación con la PCR (Dong-Jun An, et al.,2007).

Estos hallazgos llegan a demostrar que la prueba de inmunocromatografía desarrollada para detectar VMC es tan buena como la RT PCR (PCR de Tiempo Real), cuando se utilizan hisopados conjuntivales como material de muestra, y puede ser de gran ayuda para la detección temprana de infección por VMC (Dong-Jun An, et al., 2007).

La ventaja de realizar una prueba de inmunocromatografía en lugar que otras técnicas diagnósticas usadas en la clínica práctica, es que el procedimiento es simple, rápido y puede ser realizado por los veterinarios en la clínica práctica diaria (Dong-Jun An, et al., 2007). Las muestras de hisopado conjuntival son significativamente más fáciles de obtener que el resto de las muestras para las diferentes pruebas, pero deben ser colectadas en etapas tempranas de la enfermedad. Se cree que el VMC en la



conjuntiva no está sujeto a rápida eliminación por el sistema inmune, es por ello que el hisopado conjuntival apunta a ser la mejor muestra para realizar pruebas de detección de moquillo en fase aguda (Kim et al., 2006). Esta prueba puede ser realizada en 5 minutos sin la necesidad de instrumentos especiales, y su utilización podría ayudar a reducir la morbilidad y mortalidad de esta enfermedad, así como también permitir un tratamiento precoz de la misma (Dong Jun An et al., 2007).

El test de inmunocromatografía tiene la desventaja de que puede encontrarse limitada, en términos de la cantidad de Ag que puede detectar. Además, se requiere grandes cantidades de Ac para generar una banda claramente visible y que el resultado no esté ligado a la subjetividad del operador (Dong-Jun An et al., 2007).

### OTROS METODOS DIAGNÓSTICOS

Varias técnicas se han utilizado para el diagnóstico, incluido aislamiento viral, anticuerpos fluorescentes y RT PCR, sin embargo, la inmunofluorescencia directa da resultados falsos negativos en presentaciones subagudas o crónicas de esta enfermedad. Además, emplear estos últimos métodos suelen ser laboriosos y consumen mucho tiempo (Dong-Jun An, et al., 2007).

La medición de los anticuerpos en suero puede colaborar en el diagnóstico de moquillo. La documentación de un cuádruple incremento de IgG durante 2-3 semanas, o detección de anticuerpos M en suero es compatible con infección o vacunación reciente, pero no demuestran la enfermedad clínica. La desventaja de esta técnica es la obtención de la muestra de suero pareada, lo cual llevarlo a la práctica no es sencillo (Couto, 2000).

Los test serológicos son ampliamente disponibles para la documentación de infección por VMC. Sin embargo, pueden dar falsos negativos en los perros que no han montado una respuesta inmune, debido a la profunda inmunosupresión causada por los efectos de la infección por VMC (Greene, 2012). Las pruebas de anticuerpos fluorescentes son usadas para medir los anticuerpos IgM e IgG. La detección de IgM la cual puede persistir por 3 meses apoya a que haya infección por VMC (Ettinger, 2010). Si bien esta

prueba puede facilitar el diagnóstico específico de VMC, requiere equipamiento especial usualmente manejado por los laboratorios regionales de diagnóstico (Greene, 2012). La inmunofluorescencia es usualmente realizada a partir de frotis citológicos de epitelio conjuntival, tonsilar, genital y respiratorio, pero puede ser realizada también a partir de células de la capa leucocitaria, sedimento urinario y médula ósea (Greene, 2012). Los antígenos se detectan en capas leucocitarias en frotis, desde 2 a 5 días PI, y decrecen a medida que los títulos de Ac aumentan para el día 8 a 9, en asociación con la recuperación clínica (Ettinger, 2010). La fluorescencia positiva en epitelio conjuntival y genital es detectada comúnmente solo en las primeras 3 semanas PI, cuando la enfermedad clínica es evidente (Ettinger, 2010). Los virus pueden ser detectados por períodos más largos en células epiteliales y macrófagos del tracto respiratorio inferior y en lavados trans-traqueales. El virus persiste por lo menos 60 días en piel, tejido uveal, almohadillas plantares y SNC. La examinación por fluorescencia directa de células en raspajes conjuntival, LCR o a partir de monocapas sanguíneas, ayuda en las fases agudas de la enfermedad. En contraste, en casos crónicos no es retribuyente porque el encubrimiento de los anticuerpos o la eliminación viral da resultados negativos en inmunofluorescencia (Greene, 2012).

La detección de antígenos virales por métodos inmunofluorescentes o ELISA, son poco útiles para perros con distemper neurológico que tienen, o ya se han recuperado de los signos sistémicos. Las pruebas más sensibles como PCR pueden ser más valiosas en estas situaciones (Greene, 2012).

Las inclusiones del VMC se pueden detectar en la fase temprana de la enfermedad mediante el examen de películas de sangre periférica teñidas, linfocitos, y con menos frecuencia en monocitos, neutrófilos y eritrocitos (Ettinger, 2010; Greene, 2012). Estas inclusiones generalmente se presentan durante 2- 9 días luego de la infección, por ello no suelen encontrarse cuando se presenta la sintomatología (Couto, 2000; Ettinger, 2010).

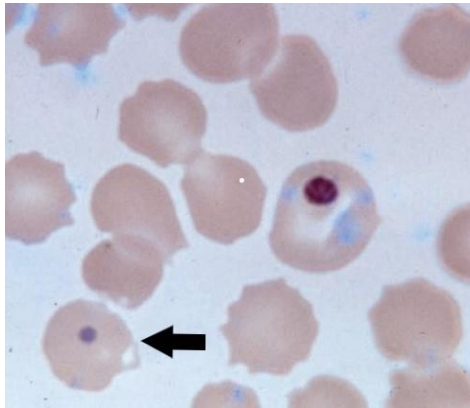


FIG 5: Inclusión de virus del Moquillo canino (flecha) en comparación con un cuerpo de Howell-Jolly (tinción Wright, x1000) (Greene, 2012).

La radiografía representa otro método complementario orientativo. Aquellos perros que presenten signos respiratorios pueden tener patrón intersticial si la infección es leve, o patrón alveolar cuando hay infecciones bacterianas que complican el cuadro llevando incluso a bronconeumonía grave (Greene, 2012). Otros hallazgos radiográficos que pueden estar presentes son las lesiones metafisiarias con osteodistrofía hipertrófica en los huesos largos. Los animales con VMC neurológico, pueden ser desafíos diagnósticos si no hay historial de evidencia de enfermedad sistémica (Ettinger, 2010).

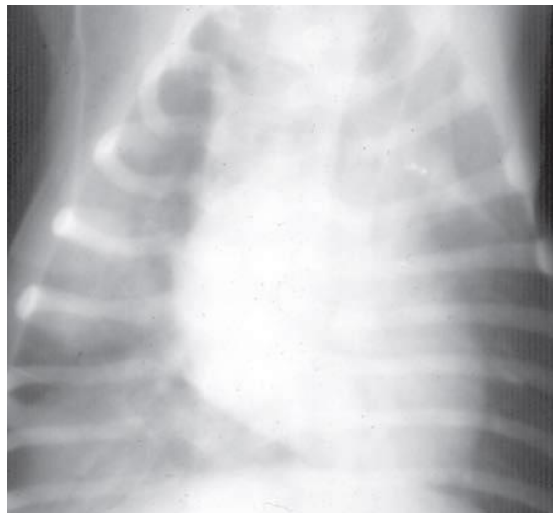


FIG 6: Radiografía dorsoventral de un cachorro con bronconeumonía por Moquillo (Greene, 2012).

### 1.5.1 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

El Moquillo es confundido a menudo con otras infecciones sistémicas como Hepatitis Infecciosa Canina o Leptospirosis (Kahn, 2007). Las alteraciones nerviosas que este virus produce pueden parecerse a las presentes en Toxoplasmosis y Neosporosis, así como también a casos de intoxicaciones por plomo u órganos fosforados (Smith, 1998; Kahn, 2007). En perros adultos, la presentación respiratoria de Moquillo es frecuentemente confundida con Traqueobronquitis Infecciosa Canina (Greene, 2012). Las alteraciones gastrointestinales producidas por el VMC son similares a las producidas por parasitosis intestinales, y las mas severas se asimilan a infección por parvovirus canino (Smith, 1998).

### 1.6 TRATAMIENTO

El tratamiento para perros con VMC es principalmente de soporte. Es primordial la administración parenteral de fluidos, sobre todo en aquellos perros con diarrea y vómitos, ya que corren el riesgo de deshidratación (Ettinger, 2010). Se recomienda que los animales con afección del tracto respiratorio se instalen en ambientes limpios, cálidos y donde no haya grandes variaciones de temperatura (Greene, 2012). Para tratar animales con neumonía secundaria se recomienda antibióticos de amplio espectro por varias semanas, expectorantes y, de ser posible, nebulizaciones (Ettinger, 2010; Greene, 2012). Se recomienda cambiar el tipo de antimicrobianos si no se observa respuesta a los mismos (Greene, 2012). Las descargas óculo-nasales deben limpiarse de la cara y de ser necesario administrar antieméticos. Las vitaminas deberán ser administradas como terapia inespecífica para prevenir pérdida de estas, ocasionada por la anorexia y la diuresis, y estimular el apetito (Greene, 2012). Las mioclonías, convulsiones o neuritis óptica son tres manifestaciones neurológicas que pueden ser toleradas por varios dueños; la mioclonía es usualmente intratable e irreversible, muchas terapias han sido probadas sin éxito (Greene,2012).

Para controlar las convulsiones utilizar diazepam, pentobarbital o bromuro de potasio. La ribavirina inhibe la replicación del VMC in vitro, pero no se ha descrito el uso en perros infectados. La prognosis para perros con enfermedad neurológica es considerada de reservada a pobre y cuando los signos neurológicos son incompatibles con la vida, se recomienda la eutanasia (Ettinger, 2010; Greene, 2012).

## **1.7 PREVENCIÓN Y CONTROL**

La prevención para el VMC es la vacunación (Ettinger, 2010). Los cachorros obtienen los anticuerpos maternos contra el MC a través del útero (3%) y del calostro (97%). Un cachorro que no ha ingerido calostro estaría cubierto por un período entre 1 y 4 semanas. Estos Ac maternos decrecen hacia las 12 semanas de vida (Greene, 2012). La Asociación Americana de Hospitales Animales recomienda que la vacunas contra VMC se deben dar cada 3 o 4 semanas, entre las 6 y 16 semanas de vida en cachorros que han mamado calostro (Ettinger, 2010; Greene, 2012; Jensen, 2015). Para animales que no han podido acceder al calostro y para perros de más de 16 semanas, se recomienda al menos administrar dos vacunas a intervalos de 2-4 semanas (Greene, 2012). La vacunación en animales ya expuestos tendrá poco o nulo efecto en el resultado (Ettinger, 2010).

Las vacunas recomendadas contienen VMC con altos títulos, bajos pasajes, VMC vivas modificadas, o un vector de la canarypox conteniendo la Hemaglutinina y los genes de fusión (Ettinger, 2010). Las vacunas muertas o recombinantes tienen inmunidad más corta, pero a menudo son reforzadas por exposición natural (Greene, 2012).

Las vacunas inactivadas que contienen el virus entero han demostrado ser inconsistentes. En contraste, otras vacunas que contienen glicoproteína de superficie(F) han demostrado ser protectoras al realizar enfrentamiento desafío, al igual que otras vacunas que contenían antígeno F y glicoproteína H modificada (Greene, 2012).

Si bien las vacunas vivas modificadas ofrecen una fuerte protección contra la infección por VMC, la inmunidad no es tan duradera como la infección natural o infección experimental con virus virulentos (Greene,2012). La duración de la inmunidad generada

por vacunas vivas y recombinantes es de al menos 3 años (Ettinger, 2010). Las vacunas vivas modificadas de VMC se cree que provocan respuesta inmune de tipo humoral y mediada por células. Sin embargo, la ausencia detectable de Ac en perros vacunados no resultó en que estos fueran susceptibles al enfrentarlos al VMC. Estos resultados confirman que la inmunidad mediada por células y/o la habilidad de regenerar inmunidad rápidamente puede mantener protección incluso cuando los niveles de Ac han descendido a niveles bajos o indetectables (Jensen et al., 2015).

Muchos autores han sugerido que, en vez de revacunar anualmente las mascotas, pueda realizarse una evaluación de sus niveles de anticuerpo en bases regulares, y solo aquellas mascotas que muestren títulos de anticuerpos bajos, limítrofes o inexistentes, sean revacunados. Se ha evaluado la utilidad de un kit comercial disponible estandarizado para la clínica diaria (ELISA, por ejemplo) que mida IgG de VMC, para perros que no hayan sido vacunados en el período de un año (Warner et al., 2006).

La desventaja de este tipo vacunal es que generar una mejor vacuna, que brinde más protección, implica usar cepas más agresivas, lo cual es contraproducente cuando se las utilizan en animales inmunosuprimidos, ya que es probable que produzca la enfermedad (Greene, 2012). La complicación más frecuente ocasionada por estas vacunas es la encefalitis post vacunal, entre los 7 y 14 días post vacunación, con la presentación de signos neurológicos variables. Sin embargo, el comienzo de la enfermedad del moquillo canino después de la vacunación es más probable que se deba a la infección previo al momento de la vacunación (Ettinger, 2010). Por este motivo se recomienda la utilización de este tipo de vacunas con cautela (Greene, 2012).

La falla en la inmunización se atribuye generalmente a la inadecuada conservación del producto, o a programas de vacunación incorrectos (Ettinger, 2010). En casos de historial de vacunación desconocido es recomendable utilizar la medición de anticuerpos protectores específicos contra VMC, mediante una prueba de neutralización viral ya que estos son el mejor indicador de protección contra la infección (Greene,

2012). Ésta es otra opción que se le puede brindar a cada individuo sin la necesidad de revacunaciones arbitrarias (Jensen et al., 2015).

El VMC es susceptible a la luz ultravioleta, aunque las proteínas y antioxidantes que lo rodean ayudan a protegerlo de la inactivación. Es extremadamente susceptible al calor y a la desecación, es destruido por temperaturas de 50°C a 60°C durante 30 minutos. En tejidos y secreciones sobrevive por menos de una hora a 37° C, y 3 horas a 20°C. A temperaturas de refrigeración (0 a 4°C) sobrevive en el ambiente por semanas, y a temperaturas por debajo de 0° (hasta -67°C) lo hace por 7 años. Permanece viable a pH de entre 4,5 a 9. Al ser un virus envuelto es susceptible al éter y al cloroformo, solución de formalina diluida, fenol, y a desinfectantes de amonio cuaternarios. Por este motivo, los desinfectantes de rutina usualmente son efectivos para destruir el VMC en una perrera u hospital (Greene, 2012).

## 2. CASO CLÍNICO

### 2.1 RESEÑA DEL ANIMAL

- **ESPECIE:** Canino
- **RAZA:** Bulldog Francés
- **SEXO:** Hembra
- **EDAD:** 2 meses
- **TALLA Y/O PESO:** Pequeño, peso 1,650 kg
- **COLOR DEL MANTO:** Negro
- **NOMBRE:** Tina



### 2.2 SEMIOLOGIA CLÍNICA

- **INSPECCIÓN GENERAL:** llega a la consulta con un cuadro convulsivo, secreción ocular, muy delgada.
- **ANAMNESIS:** Su dueña comenta que la adquirió con 2 meses de vida, y había sido vacunada en el criadero una semana antes de que se la entreguen (Vanguard 5 Pfizer®). Cuentan que, desde que la tienen, presenta anorexia y secreción ocular, por lo que la llevaron a un veterinario, donde fue tratada por 4 días. Se indicó análisis de sangre y detección de antígeno de Distemper. Decide realizar una interconsulta al momento que presenta signos neurológicos.



La persona encargada del criadero dijo que este cachorro fue el que menos se alimentaba de la camada.

- **INSPECCIÓN PARTICULAR:** ganglios submandibulares, poplíteos y pre-escapulares reactivos
- **PALPACIÓN, PERCUSIÓN:** sin anormalidades
- **AUSCULTACIÓN TORÁCICA:** sin anormalidades
- **FRECUENCIA CARDÍACA:** 160 latidos/min
- **FRECUENCIA RESPIRATORIA:** 32 resp/min
- **TEMPERATURA:** 39,4C°



## **2.3 MÉTODOS COMPLEMENTARIOS**

### **HEMOGRAMA**

	Fecha:	Valor de referencia

	10-08-2017	
Leucocitos	8000 / mm <sup>3</sup>	8 – 15 x 10 <sup>3</sup> / mm <sup>3</sup>
Hematíes	3.400.000 / mm <sup>3</sup>	5 – 7,5 x 10 <sup>6</sup> / mm <sup>3</sup>
Hematocrito	26 %	30 a 40 %
Hemoglobina	7,1 g/dl	10 a 16 gr/dl
Plaquetas	207.000 x mm <sup>3</sup>	100.000 a 650.000 x mm <sup>3</sup>
Reticulocitos	4 %	0 a 1 %

### BIOQUÍMICA SANGUÍNEA

	Fecha: 07 – 04 – 17	Valor de referencia
Glucosa	1,04 g/l	0,7 – 1,1 g/l
Urea	0,3 g/l	0,15 – 0,4 g/l
Creatinina	0.71 mg/dl	0,9 – 1,9 mg/dl
ALT	38 UI/l	Hasta 70 UI/l
AST	52 UI/l	Hasta 75 UI/l
Fosfatasaalcalina	121 UI/l	Hasta 320 UI/l
Billirubina total	0,32 mg/dl	0,1 a 0,6 mg/dl
Billirubinadirecta	0,11 mg/dl	0,0 a 0,1 mg/dl

### PRUEBA DE DETECCIÓN DE ANTÍGENO VIRAL DE DISTEMPER MEDIANTE INMUNOCROMATOGRAFÍA

Resultado: Positivo.

## **2.4 INTERPRETACIÓN CLINICO-PATOLÓGICA:**

Los hallazgos encontrados en el hemograma revelan la presencia de anemia regenerativa que suele coincidir con cuadro clásico de Moquillo Canino.

Los resultados de bioquímica sanguínea son inespecíficos por lo que no son tomados en cuenta para el diagnóstico de la patología en cuestión, pero sí son importantes para determinar la glucemia y funcionalidad hepática y renal que, en este cachorro, se encuentran dentro de los valores normales.

Para detectar esta enfermedad debemos basarnos en una buena anamnesis y observación clínica, para llegar a la sospecha de infección por virus del moquillo y solicitar las pruebas debidas.

Ante el hallazgo positivo de detección de antígeno viral, el paciente se encuentra en la fase aguda de infección por dicho virus.

## **2.5 TRATAMIENTO**

Recibió tratamiento por 4 días en otra veterinaria, y posteriormente continuó con el mismo en Veterinaria CRENA. El paciente recibió penicilina y estreptomicina junto con enrofloxacin para combatir las infecciones bacterianas secundarias. Se le administró vitamina B, leche tindalizada como inmunoestimulante, diazepam para tratar las convulsiones, y se llevó Fenobarbital para administrar en su casa  $\frac{1}{4}$  de comprimido cada 12 hs.

Se recomendó subir la dosis de Fenobarbital a  $\frac{1}{2}$  de comprimido cada 12 hs, debido a que presentó varios episodios convulsivos.

## **2.6 PRONÓSTICO**

Malo a reservado: El paciente tuvo una progresiva pérdida de estado corporal y no manifestó respuesta al tratamiento. Las convulsiones no cesaron a pesar del empleo de diferentes drogas y de la elevación de las dosis.

### 3. CONCLUSIÓN

El diagnóstico de Moquillo Canino es a menudo presuntivo, basándose en la anamnesis del paciente junto a los signos clínicos manifestados. Las pruebas de laboratorio rutinarias no confirman la sospecha de infección por VMC, ya que no hay anormalidades de laboratorio patognomónicas de esta enfermedad. La anormalidad hematológica más constante es la linfopenia. Los cambios encontrados en los estudios de bioquímica sérica de los animales con moquillo en su fase aguda son inespecíficos. El diagnóstico definitivo del VMC depende de la detección del antígeno viral o del ácido nucleico en muestras *antemortem* o *postmortem*, aislamiento viral y serología.

La inmunocromatografía es una técnica rápida y sencilla, que puede ser realizada por los veterinarios en la clínica práctica diaria. Puede ser utilizada para proveer de un tratamiento médico a tiempo que busque preservar la vida del paciente infectado, especialmente si tiene signos neurológicos. Es importante, contar con una prueba sencilla que pueda detectar rápidamente y en forma específica la infección por VMC. El procedimiento consta de un solo paso y es tan simple, que permite análisis de múltiples muestras a la vez. Esta técnica desarrollada para detectar VMC es tan buena como la RT PCR, cuando se utilizan hisopados conjuntivales como material de muestra, y puede ser de gran ayuda para la detección temprana de infección por VMC. Las muestras de hisopado conjuntival son significativamente más fáciles de obtener que el resto de las muestras para las diferentes pruebas. Contar con una herramienta como ésta, no solo ayuda a excluir otros diagnósticos, sino también, prevenir la diseminación de esta importante enfermedad.

La prueba de inmunocromatografía puede ser realizada en 5 minutos sin la necesidad de instrumentos especiales, y su utilización podría ayudar a reducir la morbilidad y mortalidad de esta enfermedad, así como también permitir un tratamiento precoz de la misma.

#### 4. BIBLIOGRAFÍA

- An, Dong-Jun, Kim, Tae-Young, Song, Dae-Sub, Kang, Bo-Kyu y Park, Bong-Kyun. (2007). An immunochromatography assay for rapid antemortem diagnosis of dogs suspected to have canine distemper. *Journal of Virological Methods*.
- Cohen, Katherine M. y Diaz Lucas R. Dogs. (2013). *Domestication History, Behavior and Common Health Problems*. Editorial Nova Novinka.
- Ettinger, Stephen J. y Feldman, Edward. (2010). *Veterinary Internal Medicine. Seventh Edition*. Editorial Elsevier Missouri.
- Greene, Craig E. (2012). *Infectious Diseases of the Dog and Cat. Fourth Edition*. Editorial Elsevier Missouri.
- Jensen, Wayne, Totten, Janet, Lappin, Michael R. y Schultz, Ronald D. (2015). Use of serologic test to predict resistance to Canine distemper virus-induced disease in vaccinated dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*.
- Kahn, Cynthia M., editor. (2007). *Merck Veterinary Manual. Sixth Edition*. Editorial Océano/Centrum.
- Kim, Doo, Jeoung, Seok-Yong, Ahn, So-Jeo, Lee, Jong-Hyun, Pak, Son-II y Kwon, Hyuk-Moo. (2006). Comparison of tissue and fluid samples for the early detection of Canine Distemper Virus in experimentally infected dogs. *Internal Medicine*.
- Maclachlan, James N. y Dubovi, Edward J. (2011). *Fenner's Veterinary Medicine, Fourth Edition*. Editorial Elsevier.
- Nelson, Richard W y Couto, Guillermo. (2000). *Manual de Medicina Interna de Pequeños Animales, Segunda Edición*.
- Pinnoti, M., Gollan, A., Passeggi, C. y Formentini, E. (2012). Aspectos clínicos y epidemiológicos del Distemper canino. Estudio de casos diagnosticados en la ciudad de Santa Fe entre los años 1998 y 2009. *Revista FAVE- Ciencias Veterinarias*.
- Smith, Francis W. K. y Tilley, Larry P. (1998). *La consulta veterinaria en 5 minutos*. Editorial Intermédica.

-Tizard, Ian. (2013). *Veterinary Immunology*. Ninth Edition. Editorial Elsevier Missouri. Editorial Elsevier.

-Warner Trevor, Mazar Shlomit y Keren-Kornblatt Ephraim. (2006). Evaluation of a dot Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Evaluation of the Immune Status to Canine Parvovirus and Distemper Virus in Adult Dogs before Revaccination. *The Veterinary Record*.