

ARTÍCULO ORIGINAL

Perfil hematológico y bioquímico de perros infectados experimentalmente con diferentes variantes de parvovirus canino tipo 2 (PVC-2) en la provincia Bolívar, Ecuador

Jaime W. Aldaz Cárdenas^I, Juan R. García-Díaz^{II}

^IEscuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos naturales y del ambiente, Universidad Estatal de Bolívar, Provincia Bolívar, Ecuador. Correo electrónico: zootecja@gmail.com. ^{II}Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central «Marta Abreu» de las Villas. Carretera a Camajuaní km 5,5. Santa Clara (54830), Villa Clara, Cuba. Correo electrónico: juanramon@uclv.edu.cu.

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo fue caracterizar el cuadro clínico en perros mestizos infectados experimentalmente con las variantes PVC-2a y PVC-2c. Se utilizaron 18 caninos entre tres y cuatro meses de edad, de $6 \pm 0,5$ kg de peso y clínicamente sanos. Se conformaron tres grupos de seis animales cada uno: uno infectado con la variante PVC-2a, otro con la PVC-2c y otro se utilizó como control negativo. Se monitoreó la evolución clínica de los animales que incluyó la hematología y la bioquímica. Se comparó el tiempo promedio de aparición de los síntomas y la puntuación clínica mediante la prueba de t-Student para muestras independientes; los análisis hematológicos y bioquímicos se realizaron mediante un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA) y la prueba LSD. Los animales inoculados con PVC-2a y PVC-2c presentaron los síntomas característicos de la PVC. El cuadro clínico fue más severo con la cepa PVC-2c, donde la leucopenia y la depresión mental aparecieron más temprano ($p < 0,05$) y presentaron mayor puntuación clínica ($p < 0,05$), menores niveles de leucocitos totales, linfocitos, neutrófilos y concentraciones superiores de proteína C-reactiva y ceruloplasmina en suero sanguíneo que en los infectados con la PVC-2a ($p < 0,05$). Se concluye que el cuadro clínico en perros mestizos infectados experimentalmente con las variantes PVC-2a y PVC-2c se caracterizó por leucopenia, linfopenia, deshidratación, depresión mental, disminución significativa de las proteínas totales y la glucosa, así como el aumento de las proteínas de fase aguda y el nitrógeno ureico en sangre (BUN), con síntomas más severos en los animales inoculados con la PVC-2c.

Palabras clave: parvovirus canino, cambios hematoquímicos, proteínas de fase aguda.

Hematologic and biochemical profile of experimentally infected dogs with different variants of canine parvovirus type 2 (PVC-2) in the province of Bolívar, Ecuador

ABSTRACT: The objective was to characterize the clinical signs and symptoms in crossbred dogs experimentally infected with the variants of PVC-2a and PVC-2c. Eighteen clinically healthy animals of 3 to 4 months of age and 6 ± 0.5 kg of body weight were used. Three groups of 6 animals each were formed; one group infected with PVC-2a, another with PVC-2c, and a third group left as a negative control. The clinical evolution of the animals was monitored, including hematologic and biochemical studies. Student's t test was used to compare the average time for symptom appearance. An analysis of variance of simple classification (ANOVA) and the LSD test were used for the hematologic and biochemical analyses. The inoculated animals presented PVC symptoms. The clinical signs and symptoms were more severe in the animals with PVC-2c, where leucopenia and mental depression appeared earlier ($p < 0,05$), and they presented higher clinical points ($p < 0,05$), lower levels of total leucocytes, lymphocytes, and neutrophils, higher concentrations of reactive C protein and ceruloplasmin in the blood plasma than in those animals in the group affected with PVC-2a ($p < 0,05$). It was concluded that the clinical symptoms of crossbred dogs experimentally infected with the variants PVC-2a and PVC-2c were characterized by leucopenia, lymphopenia, dehydration, mental depression, a significant decrease in total proteins and glucose, as well as an increase of acute phase proteins and blood urea nitrogen (BUN), symptoms which were more severe in the animals inoculated with PVC-2c.

Key words: canine parvovirus, haematochemicals changes, acute phase proteins.

INTRODUCCIÓN

La parvovirus canina (PVC) es una epizootia global en la población canina (1) y las variantes de agente etiológico, PVC-2a, PVC-2b y PVC-2c circulan en el mundo y sus frecuencias relativas varían entre los países (2). En América del Sur, las variantes de PVC tienen cambios en las cepas circulantes en las diferentes regiones y periodos de tiempo (3, 4, 5). Las manifestaciones clínicas y hematológicas de la PVC están descritas (6); no obstante, sobre los indicadores bioquímicos del metabolismo proteico y energético solo existen pocos trabajos y con resultados contradictorios, por lo que se requieren estudios con profundidad.

En la PVC se diagnosticó que estaban aumentadas la proteína C reactiva (CPR), la haptoglobina (Hp) y la ceruloplasmina (Cp), donde la magnitud del aumento sirvió de pronóstico de la evolución clínica en esta enfermedad y la CPR fue un buen factor de predicción de mortalidad (7). El cuadro clínico de la PVC puede evolucionar por las nuevas variantes de PVC-2; en un estudio realizado en Corea sobre la infección experimental con diferentes variantes (PVC-2a-I, PVC-2a-V y PVC-2b), la PVC-2a tuvo mayor patogenicidad que PVC-2b (8); sin embargo, no existen estudios de este tipo que incluyan a la PVC-2c.

En Ecuador, en perros infectados naturalmente, las variantes de mayor incidencia y circulación fueron PVC-2a y PVC-2c, con una asociación significativa entre ellas y algunos síntomas, sin conocerse el tiempo que llevaban enfermos (5). El objetivo del presente trabajo es caracterizar el cuadro clínico en perros infectados experimentalmente con las variantes PVC-2a y PVC-2c.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el año 2013 en la Unidad de Experimentación Animal de la Universidad Estatal de Bolívar (UEB), ubicada en el Cantón Guaranda, Bolívar, Ecuador. Se utilizaron 18 caninos mestizos (nueve machos y nueve hembras), con edad comprendida entre tres y cuatro meses, determinada según la anamnesis y la cronometría dentaria (9), peso de $6 \pm 0,5$ kg y clínicamente sanos. Todos eran hijos de madres no vacunadas, negativas a PVC y con buen estado de salud. La muestra se seleccionó según lo establecido por Snedecor y Cochran (10).

El estado de salud de las madres y los cachorros se determinó mediante el método clínico (11); este incluyó los estudios hematológicos y coprológicos, además de la detección de la excreción viral en heces mediante el paquete comercial Anigen Rapid Canine

Parvovirus Antigen Test Kit (BioNote, Korea), según los procedimientos descritos por el fabricante y Shashidhara y Kapil (12) y la detección de Ac en suero sanguíneo contra el PVC-2 mediante ELISA, utilizando el paquete comercial INgezim parvo canino (Ingensa, Madrid, España).

Todos los cachorros se destetaron a los 30 días de edad; previo a la infección experimental tuvieron un periodo de adaptación de 10 días donde se inspeccionaron clínicamente a las 07:00 y 19:00 horas (11). Finalizado este periodo se realizó un ensayo controlado con selección al azar de los animales para cada tratamiento y a triple ciego. Se conformaron tres grupos de seis animales cada uno (tres machos y tres hembras): se infectó un grupo con la variante PVC-2a, otro con la PVC-2c y se utilizó un grupo control negativo. La infección experimental se realizó según los procedimientos descritos por Aldaz (13) y 12 horas previas a la misma los perros no recibieron alimento alguno.

La infección se confirmó mediante el método clínico (11) y la detección viral en heces mediante el paquete comercial rápido Anigen, descrito anteriormente. Antes y cada 48 horas después de la infección experimental, durante 14 días, a todos los animales que permanecían en el experimento se les tomaron 5 ml de sangre según Kaneko *et al.* (14). Se realizaron análisis hematológicos en un analizador IdexxVetAutoread™ (IdexxLaboratoriesVetLab® USA), según los procedimientos del fabricante y bioquímicos, en un analizador IdexxVetTest® (IdexxLaboratoriesVetLab® USA), según los procedimientos del fabricante y la utilización de paquetes comerciales.

La CPR se determinó con el paquete comercial TrideltaPhase™ range canine CRP kit (Tridelta Development Limited, Irlanda) en un analizador bioquímico semiautomático BS-3100 (Sinnova Medical Science & Technology Co., Ltd. China), según los procedimientos descritos por Martínez-Subiela y Cerón (15). La Cp se determinó por el método de Nefelometría (16), en un analizador automatizado Array Protein System, modelo 7571. Beckman, Brea, Ca, EUA. La puntuación clínica diaria de los animales se estableció según Decaro *et al.* (17). Se mantuvieron los principios éticos para evitar el sufrimiento de los animales, según los protocolos de investigación aprobados por el Comité Institucional de ética de la UEB.

Los perros se ubicaron en jaulas independientes, de acero inoxidable, con dimensiones de 0,6 x 0,5 x 0,5 m de largo, ancho y alto; el local era de 24 m², piso de cemento pulido con inclinación de dos grados y revestido de pintura impermeable, paredes de cemen-

to revestidas de azulejos hasta una altura de 1,5 m y techo de placa a una altura del piso de 2,30 m. Se mantuvo temperatura constante a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ y humedad relativa entre 60 y 70% (18); libre de patógenos específicos y otros gérmenes (19). Se realizaron 15 cambios de aire por hora, se mantuvieron ciclos de luz/oscuridad con 12/12 horas por día y una intensidad de ruido no mayor de 85 dB (20). La alimentación fue a base de concentrado comercial balanceado y peletizado Pro-Can. El agua se suministró a voluntad.

Se obtuvieron los estadígrafos descriptivos de cada variable. Se comparó el tiempo promedio de aparición de los síntomas y la puntuación clínica mediante la prueba de t-Student para muestras independientes. Los análisis hematológicos y bioquímicos se compararon mediante un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA) y la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) para comparar las medias en los casos

en que existieron diferencias estadísticas significativas, previa comparación de la homogeneidad de varianza. En todos los procesamientos se utilizó el paquete estadístico Statgraphis Centurion Ver. XV.II (Statistical Graphic Corp., USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los animales enfermaron y presentaron los síntomas clínicos típicos de la PVC, independientemente de la variante del virus inoculada: predominan las diarreas, los vómitos, la deshidratación, la leucopenia, la linfopenia y la depresión mental (Tabla 1), similares a lo que se describe sobre esta enfermedad (7, 8, 21). La leucopenia y la hipotermia aparecieron más rápido en la PVC-2c que en la PVC-2a ($p < 0,05$); igual sucedió con los restantes síntomas aunque no difirieron de forma significativa, lo que indica que la PVC-2c es más agresiva que la PVC-2a.

TABLA 1. Morbiletalidad y síntomas clínicos en perros infectados experimentalmente con dos variantes de PVC en el Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador./ *Morbidity and clinical symptoms in dogs experimentally infected with two variants of PVC in the Canton Guaranda, Bolívar province, Ecuador.*

Síntomas	PVC-2a	PVC-2c
Evolución clínica n (%)		
Morbilidad	100 (6/6)	100 (6/6)
Letalidad	66,6 (4/6)	83,3 (5/6)
Recuperados	33,3 (2/6)	16,6 (1/6)
Leucopenia ($< 6 \times 10^9/\text{L}$)	100 (6/6)	100 (6/6)
Linfopenia ($< 1,5 \times 10^9/\text{L}$)	100 (6/6)	100 (6/6)
Diarreas	100 (6/6)	100 (6/6)
Vómitos	50 (3/6)	83,3 (5/6)
Deshidratación (6-8%)	100 (6/6)	100 (6/6)
Depresión mental	83,3 (5/6)	100 (6/6)
Hipotermia ($< 37^\circ\text{C}$)	33,3 (2/6)	66,6 (4/6)
Tiempo promedio (días) para la aparición de los síntomas posterior a la infección experimental.		
Fiebre ($> 39^\circ\text{C}$)	$4,60 \pm 0,89^a$	$3,66 \pm 0,81^a$
Alteración del pulso ($> 120 \text{ P}/\text{minutos}^{-1}$)	$4,75 \pm 0,50^a$	$4,00 \pm 0,70^a$
Leucopenia	$6,16 \pm 1,32^a$	$4,83 \pm 0,40^b$
Diarreas	$5,66 \pm 1,96^a$	$5,00 \pm 1,67^a$
Vómitos	$6,66 \pm 2,08^a$	$5,20 \pm 1,09^a$
Deshidratación	$7,33 \pm 1,96^a$	$6,01 \pm 1,67^a$
Retardo en el llenado capilar ($> 2 \text{ segundos}^{-1}$)	$7,50 \pm 1,87^a$	$6,16 \pm 1,47^a$
Depresión mental	$7,00 \pm 1,87^a$	$6,16 \pm 2,13^a$
Hipotermia	$6,50 \pm 0,70^a$	$5,25 \pm 0,50^b$
Muerte	$9,75 \pm 2,21^a$	$7,80 \pm 1,30^a$

^{a,b} Letras diferentes en los superíndices de los valores dentro de cada fila indican que existen diferencias estadísticas significativas para $p < 0,01$ (t-Student para muestras independientes).

Estos resultados coinciden con otros trabajos (5, 22) donde se observaron porcentajes de mortalidad superiores en perros infectados con esta cepa.

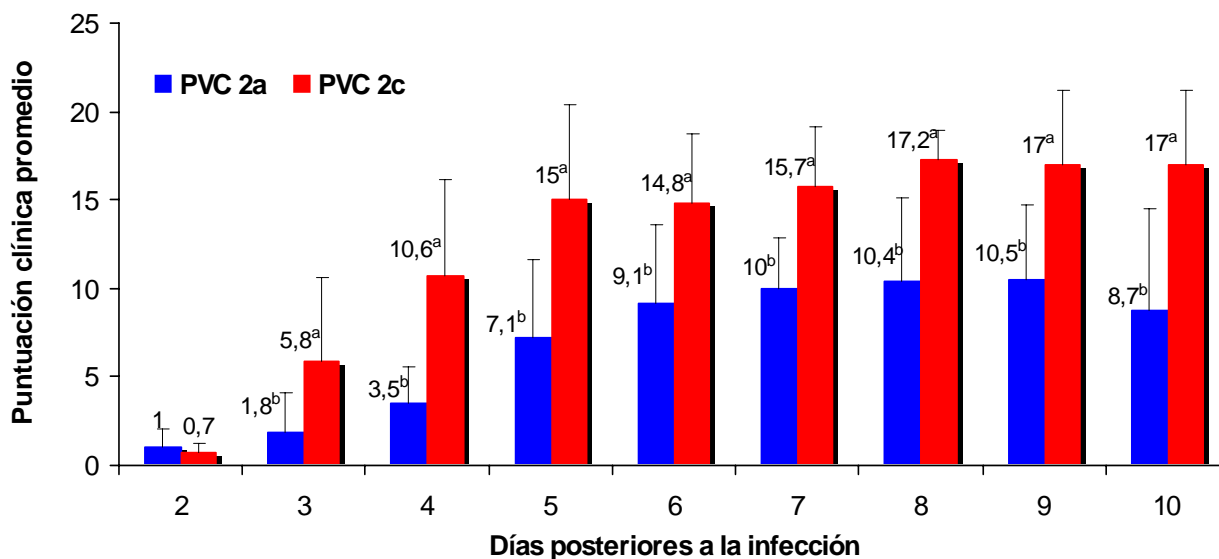
La puntuación clínica entre los días 3 y 10 fue superior en los animales inoculados con la variante PVC-2c ($p < 0,05$), lo que indica que los síntomas clínicos no solo aparecieron más tempranamente en estos animales (Figura 1), sino que fueron más severos que los observados en los perros infectados con el PVC-2a. Los resultados de la puntuación clínica en la PVC-2c son superiores a los obtenidos por Moon *et al.* (8) con las variantes PVC 2a y PVC 2b, donde la misma se incrementó, pero a partir del quinto día.

El 100% de los perros inoculados con PVC-2a y PVC-2c presentaron leucopenia (7, 11). Sin embargo, en un estudio realizado en Portugal el 72% de los perros con PVC mostraron esta alteración hematológica (23) y, en otro estudio desarrollado en Brasil, solo el 33,4% de los animales con esta enfermedad la presentaron (24). La falta de correspondencia puede explicarse porque en estos trabajos los animales se muestrearon al momento de la consulta, sin tomar en cuenta el tiempo que llevaban enfermos.

Los niveles de leucocitos totales (Figura 2) fueron inferiores en los animales infectados con PVC-2c a

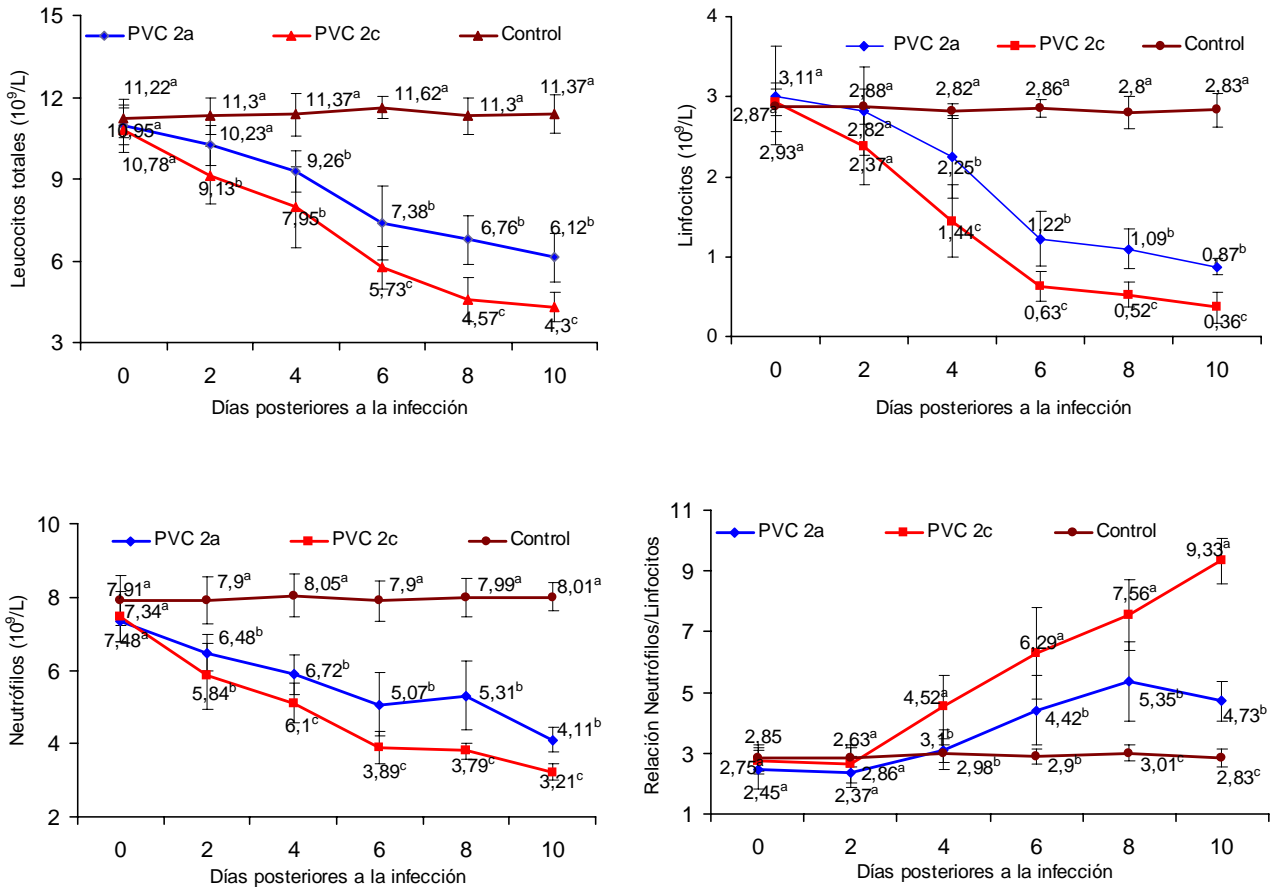
partir del sexto y hasta el décimo día ($p < 0,05$), grupo en el cual la leucopenia se apreció a los 4,83 días, periodo ligeramente inferior al encontrado en la infección experimental con PVC-2a-I realizada en Corea, que fue de 5,2 días (8) y similar al publicado por otros autores (25). En Portugal se encontró la leucopenia entre los días dos y cuatro (26), pero en este trabajo el tiempo se tomó en cuenta a partir de la hospitalización de los animales, sin conocerse el momento exacto en que estos habían contraído la enfermedad, lo que puede explicar la falta de correspondencia.

Entre los días cuatro y 10 posteriores a la infección, los animales infectados con la variante PVC-2c tuvieron valores inferiores ($p < 0,05$) de los linfocitos (Figura 2). Se diagnosticó linfopenia a partir del segundo día (Figura 2), lo que está en correspondencia con otros estudios (24, 26). La linfopenia transitoria es la alteración hematológica más consistente en la PVC (27) y las causas pueden ser debido a la liberación de corticosteroides en las infecciones agudas como la PVC, la destrucción de linfocitos, la atrofia de tejidos linfoides y la depleción de las subpoblaciones linfocitarias por el PVC-2 (28). También puede ser atribuida a la pérdida, el secuestro o el bloqueo de la circulación de la linfa rica en linfocitos (25).



^{a,b} Letras diferentes en los superíndices de los valores dentro de cada día indican que existen diferencias estadísticas significativas para $p < 0,05$ (t-Student para muestras independientes).

FIGURA 1. Puntuación clínica diaria en perros infectados experimentalmente con dos variantes de PVC en el Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador./ *Daily clinical punctuation in dogs experimentally infected with two variants of PVC in the Cantón Guaranda, County Bolívar, Ecuador.*



^{a,b} Letras distintas dentro de cada día de muestreo indican que existen diferencias estadísticas significativas, $p < 0,01$ (LSD).

FIGURA 2. Indicadores hematológicos en perros infectados experimentalmente con dos variantes de PVC-2 en el Cantón Guaranda, provincia Bolívar, Ecuador./ *Haematological indicators in dogs experimentally infected with two variants of PVC-2 in the Canton Guaranda, Bolívar province, Ecuador.*

Los neutrófilos (Figura 2) fueron inferiores ($p < 0,05$) en los perros inoculados con la variante PVC-2c entre el sexto y el décimo días, aunque el 100% de los animales presentó la neutropenia, lo que está en correspondencia con los estudios desarrollados por Goddard *et al.* (25) y la causa puede ser por la marcada pérdida de neutrófilos a través de la pared intestinal lesionada por PVC-2, que ocurre simultáneamente a la interrupción de la producción en la médula ósea (29). Además, puede atribuirse al aumento de sus necesidades para el compartimento marginal, debido a la endotoxemia secundaria y la necrosis gastrointestinal que puede producirse durante la PVC y que, además, causan depleción del sitio de maduración y almacenamiento medular (30).

La relación neutrófilos-linfocitos (Figura 2) aumentó en ambos grupos de animales en la medida que transcurrieron los días y superó el parámetro de referencia para la misma (1,5-3,5) recomendado por Cerón *et al.* (31), con diferencias estadísticas significativas entre el octavo y el décimo días entre ambos grupos. La causa de ese aumento fue que la disminución de neutrófilos y linfocitos no fue en igual proporción: en estos últimos fue más marcada que en los primeros.

El estudio de la serie roja o eritrocítica muestra que en todo el periodo de observación sus valores se encuentran dentro de los parámetros fisiológicos de referencia para la especie canina (32), sin diferencias estadísticas entre los grupos de animales (Tabla 2). Resultados similares se obtuvieron en los estudios realizados en Brasil (24) y Portugal (26). Se diagnosticó

un ligero aumento de la hemoglobina y del hematocrito entre los días dos y seis posteriores a la inoculación, que pudo estar motivado por la hemoconcentración que debió provocar la mayor deshidratación (> 6 %) de los animales en ese periodo, donde fueron más frecuentes los episodios de vómitos y diarreas y, por tanto, las mayores pérdidas de líquidos corporales.

La infección con PVC-2a y PVC-2c provocó una disminución de las proteínas totales a partir del segundo día, en comparación con el grupo control (Tabla 3), en el que se mantuvieron dentro de los parámetros de referencia para la especie (14); resultados que están en correspondencia con los obtenidos por De Souza *et al.* (24), quienes encontraron hipoproteinemia en el 88,9% de los casos de PVC. Se produjo un incremento significativo ($p < 0,05$) de los niveles del BUN a partir del cuarto día posterior a la infección con PVC-2a y PVC-2c en comparación con los animales utilizados como controles (Tabla 3), donde sus niveles están dentro del rango de referencia (1,66-4,98 mmol/l) publicado por Swenson y Reece (33) y coinciden con los que publican Forero *et al.* (34) y Dalmau y Díaz (35).

La disminución de las proteínas totales en los perros inoculados con PVC-2a y PVC-2c pudo estar motivada por los bajos niveles de albúmina, que son un fuerte indicador de hipoproteinemia (36). La hipoproteinemia puede atribuirse a la pérdida de la integridad de la mucosa intestinal que produce el PVC-2, por lo que la albúmina pasa al lumen intestinal y se elimina con las heces (23). El aumento del BUN en perros afectados con las variantes de PVC-2 pudo estar motivado por la deshidratación, que debió haber disminuido el flujo sanguíneo hasta los riñones y, por consiguiente, la excreción renal de urea (37). El incremento del BUN en perros con PVC se describió previamente (21, 24), especialmente en los que no sobrevivieron (21).

La albúmina es una proteína de fase aguda negativa (38) y desde las 48 horas posteriores a la infección disminuyó significativamente ($p < 0,05$) en los perros infectados con PVC-2a y PVC-2c, sin diferencias entre estos grupos (Figura 3), con valores promedio inferiores a los parámetros fisiológicos de referencia de 26-33 g/l (14) y más bajos en los perros inoculados con PVC-2c.

TABLA 2. Serie eritrocítica en perros infectados experimentalmente con dos variantes de PVC-2 en el Cantón Guaranda, provincia Bolívar, Ecuador./ *Erythrocytic series in dogs experimentally infected with two variants of PVC-2 in the Canton Guaranda, Bolívar province, Ecuador.*

Hemoglobina (g/l)			
Días	PVC-2a	PVC-2c	Control
0	107,16 ± 6,40	110,90 ± 9,47	109,57 ± 7,62
2	107,00 ± 6,29	111,66 ± 9,58	109,00 ± 8,71
4	111,65 ± 13,7	116,10 ± 12,55	109,03 ± 8,86
6	113,00 ± 7,33	120,03 ± 9,28	110,00 ± 8,48
8	107,66 ± 6,10	112,75 ± 9,09	111,1 ± 6,93
10	105,00 ± 7,39	108,00 ± 5,65	111,5 ± 5,25
Hematocrito (l/l)			
0	0,33 ± 0,01	0,34 ± 0,03	0,33 ± 0,02
2	0,33 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,32 ± 0,01
4	0,34 ± 0,04	0,36 ± 0,04	0,33 ± 0,02
6	0,35 ± 0,03	0,37 ± 0,05	0,33 ± 0,01
8	0,33 ± 0,02	0,35 ± 0,05	0,34 ± 0,01
10	0,32 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,35 ± 0,02
Eritrocitos (X10 ¹² /l)			
0	3,89 ± 0,16	4,20 ± 0,34	3,99 ± 0,24
2	3,92 ± 0,24	4,21 ± 0,16	4,02 ± 0,26
4	3,98 ± 0,46	4,28 ± 0,35	3,99 ± 0,25
6	4,17 ± 0,87	4,31 ± 0,50	4,05 ± 0,23
8	3,84 ± 0,19	4,08 ± 0,57	4,03 ± 0,24
10	3,84 ± 0,18	4,10 ± 0,28	4,05 ± 0,23

TABLA 3. Indicadores bioquímicos en perros infectados experimentalmente con dos variantes de PVC-2 en el Cantón Guaranda, provincia Bolívar, Ecuador./ *Biochemical indicators in dogs experimentally infected with two variants of PVC-2 in the Canton Guaranda, Bolívar province, Ecuador.*

Días	Proteínas totales (g/l)		
	PVC- 2a	PVC- 2c	Control
0	57,00 ± 1,70 ^a	56,95 ± 1,51 ^a	58,35 ± 1,02 ^a
2	55,41 ± 1,82 ^b	55,38 ± 1,84 ^b	58,10 ± 1,65 ^a
4	53,65 ± 2,70 ^b	54,21 ± 1,47 ^b	57,35 ± 1,03 ^a
6	52,40 ± 2,87 ^b	53,38 ± 1,80 ^b	58,42 ± 1,22 ^a
8	50,06 ± 3,53 ^b	51,84 ± 1,64 ^b	57,67 ± 1,32 ^a
10	51,45 ± 3,10 ^b	51,90 ± 1,14 ^b	58,82 ± 1,86 ^a
Globulinas (g/l)			
0	30,01 ± 1,63 ^a	30,18 ± 1,96 ^a	31,02 ± 0,78 ^a
2	30,21 ± 2,10 ^a	30,71 ± 1,72 ^a	30,77 ± 1,42 ^a
4	29,26 ± 2,76 ^a	30,96 ± 1,60 ^a	31,17 ± 0,67 ^a
6	29,16 ± 2,60 ^a	31,18 ± 2,00 ^a	31,85 ± 0,77 ^a
8	27,88 ± 3,61 ^a	30,38 ± 1,40 ^a	32,20 ± 0,86 ^a
10	28,50 ± 3,31 ^a	30,30 ± 0,56 ^a	31,02 ± 0,65 ^a
BUN (mmol/l)			
0	4,65 ± 0,45 ^a	4,71 ± 0,36 ^a	4,81 ± 0,57 ^a
2	4,75 ± 0,38 ^a	4,74 ± 0,34 ^a	4,82 ± 0,51 ^a
4	5,40 ± 0,76 ^{ab}	5,82 ± 0,54 ^a	4,88 ± 0,47 ^b
6	5,52 ± 0,88 ^{ab}	6,28 ± 0,80 ^a	4,87 ± 0,50 ^b
8	6,00 ± 1,11 ^{ab}	6,61 ± 0,66 ^a	4,89 ± 0,56 ^b
10	5,85 ± 1,09 ^{ab}	6,24 ± 0,57 ^a	4,87 ± 0,55 ^b

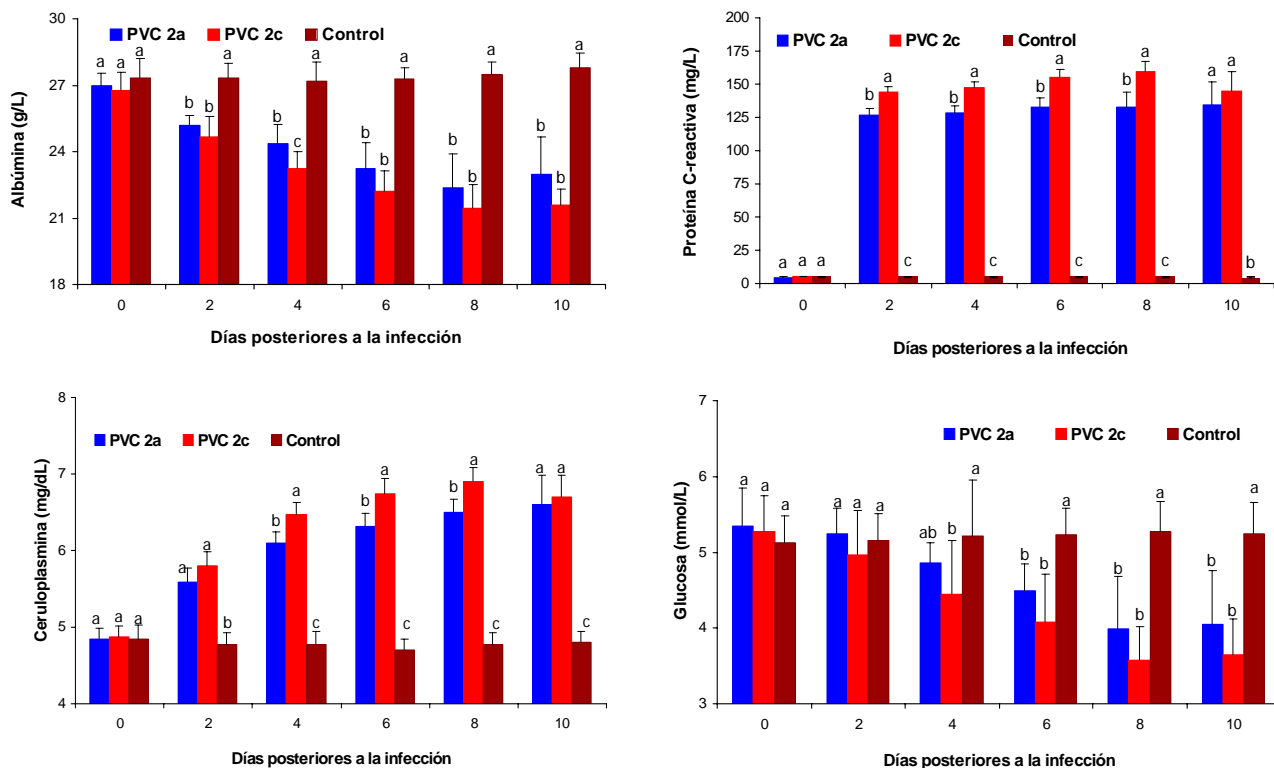
^{a,b} Letras diferentes en los superíndices de los valores dentro de cada fila indican que existen diferencias estadísticas significativas para $p < 0,05$ (LSD).

La CRP y Cp son proteínas de fase aguda positiva (38). La CPR (Figura 3), a partir del segundo día posterior a la infección con PVC-2a y PVC-2c, aumentó significativamente ($p < 0,05$) en los perros infectados con respecto al grupo control, que se mantiene dentro de los parámetros fisiológicos para la especie: < 5 mg/l (39). Las concentraciones de CPR son superiores en los animales que se inocularon con la variante PVC-2c con respecto a los que se infectaron con la PVC-2a ($p < 0,05$). La Cp (Figura 3), a partir del segundo día, difirió entre los tres grupos ($p < 0,05$); los niveles fueron superiores en los perros infectados con PVC-2c que en los inoculados con PVC-2a ($p < 0,05$). Durante todo el muestreo, en el grupo control se mantuvieron sus concentraciones dentro de los parámetros fisiológicos de la especie (4,31-5,55 mg/dl) sugeridos por Martínez-Subiela *et al.* (40). Estos resultados indican que los animales afectados con la variante PVC-2c desarrollan un cuadro clínico

más severo, con porcentajes de mortalidad superiores a los que se infectaron con PVC-2a.

La producción de endotoxinas por las bacterias Gram-negativas presentes en perros con PVC provoca el síndrome de la respuesta inflamatoria sistémica, sepsis y endotoxemia (41), que conduce a un incremento de las proteínas de fase aguda (PFAs) en esta enfermedad y tienen una importante aplicación práctica en el diagnóstico y el pronóstico de numerosos procesos patológicos, entre ellos la PVC, porque determinan con mayor exactitud su severidad (42).

En perros con PVC aumentaron 72 veces los niveles de CPR, 3,1 veces los de Hp y 0,3 veces los de Cp, mientras que la albúmina disminuyó 0,4 veces (7), con lo cual concluyeron que la magnitud del aumento de las PFAs sirvió de buen indicador de pronóstico en esta enfermedad, y la CPR fue un buen factor de predicción de mortalidad.



^{a,b}Letras diferentes en las columnas dentro de cada día de muestreo indican que existen diferencias estadísticas significativas, $p < 0,01$ (LSD).

FIGURA 3. Proteínas de fase aguda (CPR, CP y Alb) y glucosa en perros infectados experimentalmente con dos variantes de PVC-2 en el Cantón Guaranda, provincia Bolívar, Ecuador./ *Acute phase proteins and glucose in dogs experimentally infected with two variants of PVC-2 in the Canton Guaranda, Bolívar province, Ecuador.*

La glucosa sanguínea (Figura 3) en los animales controles se encuentra dentro de los valores normales de glicemia para caninos (3,85-6,60 mmol/l) establecidos por Swenson y Reece (33). A partir del cuarto día se aprecia una disminución ($p < 0,05$) de la glicemia en los perros infectados con las variantes de PVC-2a y PVC-2c, que fue más marcada en los animales inoculados con esta última variante; lo anterior pudo estar relacionada con la inanición que se observó en todos los animales que enfermaron (11) y la sepsis que debieron presentar los caninos, la cual altera el metabolismo de la glucosa/glucógeno (31).

En conclusión, el cuadro clínico en perros mestizos infectados experimentalmente con las variantes PVC-2a y PVC-2c en el Cantón Guaranda, provincia Bolívar, Ecuador, se caracteriza por leucopenia, linfopenia, deshidratación, depresión mental, disminución de la albúmina y la glucosa, así como el aumento de la proteína C reactiva, ceruloplasmina y el BUN, con síntomas más severos en los animales inoculados con la PVC-2c.

REFERENCIAS

1. Hoelzer K, Parrish CR. The emergence of parvoviruses of carnivores. *Vet Res.* 2010;4:39-47.
2. Decaro N, Buonavoglia C. Canine parvovirus-a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet Microbiol.* 2012;155:1-12.
3. Pérez R, Francia L, Romero V, Maya L, López I, Hernández M. First detection of canine parvovirus type 2c in South America. *Vet Microbiol.* 2007;124:147-152.
4. Pinto LD, Streck AF, Goncalves KR, Souza CK, Corbellini AO, et al. Typing of canine parvovirus strains circulating in Brazil between 2008 and 2010. *Virus Res.* 2012;165:29-33.
5. Aldaz JW, García JR, Caballeros L, Sosa K, Iraola G, Marandino A, et al. High local genetic diversity

- of canine parvovirus from Ecuador. *Vet Microbiol.* 2013;166(1-2):214-219.
6. Decaro N, Elia G, Martella V, Desario C, Campolo M, Di Trani L, et al. A real-time PCR assay for rapid detection and quantitation of canine parvovirus type 2 in the feces of dogs. *Vet Microbiol.* 2005;105:19-28.
 7. Kocaturk M, Martinez S, Eralp O, Tvarijonaviciute A, Cerón J, Yilmaz Z. Prognostic value of serum acute-phase proteins in dogs with parvoviral enteritis. *J Small Anim Pract.* 2010;51(9):478-483.
 8. Moon HS, Lee SA, Lee SG, Choi R, Jeoung SY, et al. Comparison of the pathogenicity in three different Korean canine parvovirus 2 (CPV-2) isolates. *Vet Microbiol.* 2008;131:47-56.
 9. Thibaut, J. Guía práctica de actividades primer semestre, Clínica pequeños animales, Valdivia, Editorial Austral Temuco. 2001. pp. 12-14.
 10. Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical methods.* 8va ed. Iowa State University Press, Ames, USA. 1994. pp. 38-45.
 11. Cuesta M, Montejo E, Duvergel J. *Medicina Interna Veterinaria. Tomos I y II.* La Habana: Editorial Félix Varela. Ministerio de Educación Superior. ISBN 978-959-07-0549-6. Cuba. 2007. pp. 5-8.
 12. Shashidhara Y, Kapil S. Simple Tests for Rapid Detection of Canine Parvovirus Antigen and Canine Parvovirus-Specific Antibodies. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16(2):127-131.
 13. Aldaz JW. Comportamiento clínico epidemiológico de la Parvovirusosis Canina en la Provincia Bolívar, Ecuador. Tesis doctoral, Universidad central «Marta Abreu» de las Villas, Cuba. 2014. pp. 74-77.
 14. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* Academic Press. 5th ed. San Diego. 2002. pp. 327-480.
 15. Martínez-Subiela S, Cerón JJ. Validación analítica de técnicas comerciales para la determinación de haptoglobina, proteína C reactiva y amiloide sérico en caninos. *Arch Med Vet.* 2004;37(1):61-66.
 16. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz textbook of clinical chemistry.* 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 1994: pp. 265-285.
 17. Decaro N, Campolo M, Lorusso A, Desario C, Mari V, Colaianni M, et al. Experimental infection of dogs with a novel strain of canine coronavirus causing systemic disease and lymphopenia. *Vet Microbiol.* 2008;128:253-260.
 18. Leader RW, Stark D. The importance of animals in biomedical research. *Persp Biol Med.* 2003;4:485-489.
 19. Goldberg A, Zurlo J, Rudacille D. The Three Rs and Biomedical Research. *Science.* 1996;272:1403-1411.
 20. Arencibia DF, Pardo B, Gámez R. Consideraciones importantes acerca de la cuarentena de perros como Biomodelos experimentales en Toxicología. *REDVET.* 2008. *Rev Electrón Vet.* 9, (12) [online] Disponible URL en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121208.html> [citado 30 de abril 2013].
 21. Bastan I, Kurtdeede A, Özen D. Prognostic usefulness of some parameters in dogs with canine parvovirus. *Ankara Üniv Vet ak Derg.* 2013;60:53-58.
 22. Decaro N, Desario C, Elia G, Martella V, Mari V, Lavazza A, et al. Evidence for immunisation failure in vaccinated adult dogs infected with canine parvovirus type 2c. *New Microbiol.* 2008;31:125-130.
 23. Ferreira RR, Barbosa PR, Godinho E, Costa UM, Gonzalez FHD, Ferreira L. Alterações hemato-bioquímicas em cães jovens com gastroenterite viral: relato de 18 casos. *Rev Cient Med Vet.* 2004;(7):159-163.
 24. De Souza R, Pereira de Souza A, Nunes da Silva, Rosangela M, Moreira OM, et al. Perfil hematológico e bioquímico de cães com gastroenterite hemorrágica por parvovirus diagnosticados pelo método de imunocromatografia. *Acta Vet Bras.* 2011;5(3):278-283.
 25. Goddard A, Leisewitz AL, Christopher MM, Duncan NM, Becker PJ. Prognostic usefulness of blood leukocyte changes in canine parvoviral enteritis. *J Vet Int Med.* 2008;22:309-316.

- 26.Santos Vera. Cinética leucocitária na evolução clínica da parvo virose canina. Tesis de maestría en medicina veterinaria integrada. Universidad de Lisboa. 2011: pp. 60-85.
- 27.Decaro N, Desario C, Billi M, Mari V, Elia G, Cavalli A, et al. Western European epidemiological survey for parvovirus and coronavirus infections in dogs. *Vet J.* 2011;187:195-199.
- 28.Latimer KS. Leukocytes in health and disease. In S.J.Ettinger y E.C. Feldman (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the dog and cat.* 4th Ed. Philadelphia, U.S.A.: WB Saunders Company. 1995: pp. 1892-1946.
- 29.Potgieter LND, Jones JB, Patton CS, Webb-Martin TA. Experimental parvovirus infection in dogs. *Can J Med.* 1981;45:212-216.
- 30.Brown RM, Rogers KS. Neutropenia in dogs and cats. *Compend Conting Educ Pract Vet.* 2001;23(6):534-543.
- 31.Cerón JJ, Braun JP, Gaál T, Godeau JM, Knottenbelt CM, Larkin HA, et al. Teaching veterinary clinical pathology to undergraduate students: an integrated European project. *Vet Clin Pathol.* 2007;36:336-340.
- 32.García-Navarro CEK. *Manual de Hematologia Veterinária.* 2. ed. São Paulo. Brasil. 2005; pp. 41-45.
- 33.Swenson M, Reece W. *Dukes' Physiology of domestic animals.* 11th ed. Cumstock Publishing Associates. Ithaca. 1993; p. 962
- 34.Forero JH, Lozano PA, Camargo BO. Parámetros fisiológicos en caninos pre y post competencia de *Agiliten* Bogotá, Colombia. *Rev Med Vet.* 2006;12: 57-71.
- 35.Dalmau EA, Díaz CA. Valores de electrolitos, gases sanguíneos, nitrógeno ureico y glucosa en sangre venosa de caninos, ubicados a 2.600 msnm. *Rev Med Vet.* 2008;16:53-61.
- 36.Silva ING, Guedes MIF, Rocha MFG, Medeiros CMO, Oliveira LC, Moreira OC, Teixeira MFS. Perfil hematológico e avaliação eletroforética das proteínas séricas de cães com cinomose. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2005;57:136-139.
- 37.Macintire DK, Smith-Carr S. Canine parvovirus. Part II. Clinical signs, diagnosis and treatment. *The Compendium on Continuing Education.* 1997;19(3):25-37.
- 38.Gruys E, Toussaint MJM, Niewold TA, Koopmans SJ. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci.* 2005;6:1045-1056.
- 39.Caspi D, Snel WJJ, Batt RM. C-reactive protein in dogs. *Am J Vet Res.* 1987;48:919-921.
- 40.Martínez-Subiela S, Tecles F, Eckersall PD, et al. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniosis. *Vet Rec.* 2002;150:241-244.
- 41.De Laforcade AM, Freeman LM, Shaw SP, Brooks MB, Rozanski EA, Rush JE. Hemostatic changes in dogs with naturally occurring sepsis. *J Vet Intern Med.* 2003;17:674-679.
- 42.Cerón JJ, Eckersall D, Martínez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol.* 2005;34 (2):85-99.

Recibido: 22-7-2015.
Aceptado: 22-9-2015.