

Seroprevalencia de Parvovirus canino en perros del municipio Boyeros, La Habana, Cuba

Seroprevalence of Canine parvovirus in dogs of Boyeros municipality, Havana, Cuba

Daniel Pino-Rodríguez^{1✉}, Mario Márquez-Álvarez¹, Nicolás Andrés Rojas-Hoyos², Mitchell Torres González-Chávez¹

¹Departamento de Clínica, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria de la Habana (UNAH), Mayabeque, Cuba.

²Médico Veterinario Zootecnista, Colombia.

RESUMEN: Para determinar la seroprevalencia de Parvovirus canino (PVC), se tomaron muestras de sangre a 160 perros mayores de un año del municipio Boyeros, La Habana, Cuba. Para la evaluación de los sueros se empleó un ELISA indirecto, desarrollado por la división de Biotecnología y Control de la Calidad del CENPALAB (Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio). Como control positivo se empleó una mezcla de sueros previamente titulados de animales vacunados contra PVC y, como control negativo, un suero canino libre de anticuerpos específicos. La seroprevalencia se determinó mediante un estudio epidemiológico observacional de tipo transversal, con el uso de datos de estimación de la población del municipio. Se obtuvo una seroprevalencia de Parvovirus canino en los perros del municipio Boyeros de 95,63 %. Este estudio demostró una alta prevalencia en la población estudiada, lo que indica una exposición previa al agente y una amplia circulación de este.

Palabras clave: seroprevalencia, Parvovirus canino, ELISA.

ABSTRACT: In order to determine the seroprevalence of antibodies against *Canine parvovirus* (CPV), blood samples were taken from 160 dogs over one year old. This study was carried out in Boyeros municipality, Havana, Cuba. For sera evaluation, an indirect ELISA was used. It was standardized by the division of the Biotechnology and Quality Control of CENPALAB (National Center for the Production of Laboratory Animals). A mixture of previously titrated sera from animals vaccinated against CPV was used as a positive control, and a canine serum free of specific antibodies as a negative control. Seroprevalence was determined by means of a cross-sectional observational epidemiological study, with the use of estimation data of the municipality's population. There was a seroprevalence of 95.63 % Canine parvovirus in the dogs of Boyeros municipality. This study showed a high prevalence in the studied population, which indicated a previous exposure to the agent and its wide circulation.

Key words: seroprevalence, Canine parvovirus, ELISA.

✉ Autor para correspondencia: Daniel Pino-Rodríguez. E-mail: daniel_pino@unah.edu.cu

Recibido: 9/1/2018

Aceptado: 25/3/2018

INTRODUCCIÓN

En el mundo, durante los últimos años se ha elevado considerablemente la cultura en la crianza de perros, tanto como mascotas, animales de trabajo o como biomodelos utilizados en investigaciones biomédicas, que hacen del perro uno de los animales más cercanos al hombre. Este contacto estrecho genera situaciones de riesgo, por la gran posibilidad que tiene este animal de transmitir enfermedades, tanto a otros animales como al ser humano, así como por el efecto contaminante que puede ejercer sobre el medio ambiente (1).

La utilización de vacunas contribuye a la prevención y al control de un grupo de enfermedades, dentro de las que se encuentra la parvovirus canina. Sin embargo, teniendo en cuenta el costo de la vacunación, se limita fundamentalmente a los animales con razas definidas, pues existe la falsa creencia que los animales mestizos son inmunes a la enfermedad. Este criterio se fundamenta en la presencia de un gran número de animales no raciales en la calle que nunca han sido vacunados y se mantienen clínicamente sanos, de manera que se desconoce su nivel de seroprotección por contacto directo con el agente presente en el ambiente (2).

Estudios realizados indican que los animales adultos sin antecedentes de vacunación, y expuestos al virus de forma natural, muestran valores de seropositividad entre 89,4 % y 91 % contra diferentes variantes antigénicas del virus, con títulos hemoaglutinantes entre 1/930 y 1/1370, considerados protectores (3). Muchos de estos animales desarrollan la enfermedad de forma subclínica o con signos leves asociados a una baja mortalidad. Esto favorece que dentro de la población existan animales seropositivos e inmunes a la reinfección, por lo menos durante 20 meses, y posiblemente de por vida. Estos títulos permanecen altos durante un periodo prolongado, aun sin que ocurran nuevas exposiciones al agente (4,5).

Los estudios de parvovirus realizados en Cuba se han llevado a cabo, fundamentalmente, durante la presentación de brotes de la enfermedad en determinadas zonas geográficas (6,7), ubicadas en la provincia La Habana, municipio Boyeros. Sin embargo, no se dispone de información relacionada con la presencia de anticuerpos (Ac) contra el agente en los perros de estas zonas geográfica, lo que permitiría conocer el grado de circulación del virus en el área y sería de importancia para establecer medidas de prevención y control cada vez más eficientes, para reducir la incidencia de la enfermedad. Es por ello que el objetivo del presente trabajo fue determinar la seroprevalencia de Parvovirus canino en perros del municipio Boyeros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La investigación se desarrolló en el municipio Boyeros, provincia La Habana, Cuba, situado entre los 23°0'26"N y los 82°24'6"O; este municipio tiene una extensión territorial de 134,2 km² y una población de 18 8474 habitantes (8).

Tipo de estudio

Para el análisis epidemiológico se realizó un estudio observacional de tipo transversal, donde se calculó la seroprevalencia con un intervalo de confianza de 95 %.

Selección de la muestra

Para la selección de la muestra se realizó un muestreo estratificado por conglomerados en un estadio (9). Para ello, se escogieron al azar una o varias manzanas de cada uno de los consejos populares del municipio Boyeros (conglomerados) y se entrevistó una persona adulta de cada vivienda que se encontró abierta en el momento de la visita (estratos). Se tomaron datos de todos los animales que cumplieron con los criterios de inclusión. Para ubicar las manzanas de cada consejo popular se utilizó un mapa del municipio, obtenido de la Dirección Municipal de Vivienda.

El tamaño de la muestra se determinó mediante el software Epidat 3.1, teniendo en cuenta la población de perros con dueño en el municipio Boyeros. Se trabajó con una seroprevalencia esperada de 50 %, una precisión absoluta de 8 % y un nivel de confianza de 95 %. La muestra estimada fue de 150 animales y en esta investigación se utilizaron 160, distribuidos en los siete consejos populares. Se diseñó una muestra probabilística estratificada por consejo popular del municipio en estudio, para calcular la cantidad de perros a muestrear en cada uno de ellos (10) (Tabla 1).

Criterio de inclusión de los animales

En la investigación se emplearon perros que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: pertenecientes a propietarios particulares residentes en el municipio Boyeros, tener más de un año de edad, no haber sido vacunado anteriormente contra PVC y estar clínicamente sano, independientemente de la raza y el cruce.

Toma de muestras

Se extrajeron 5 ml de sangre por punción de la vena yugular y se colectaron en tubos sin anticoagulante. Después de incubar durante dos horas a temperatura ambiente, se centrifugaron a 1 350 gravedades durante 10 minutos. Los

sueros obtenidos se colocaron en viales de Eppendorf de 1,5 ml previamente identificados y se conservaron a -20°C hasta su uso. Se dejaron descongelar a temperatura ambiente y se analizaron según el procedimiento descrito en el manual de recogida y toma de muestras para el diagnóstico de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (11).

Procesamiento de las muestras

Para la evaluación de los sueros se empleó un Ensayo Inmunoenzimático en Fase Sólida tipo Indirecto (ELISAI) desarrollado por la división de Biotecnología y Control de la Calidad del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Como control positivo se empleó una mezcla de sueros previamente titulados de animales vacunados contra PVC y, como control negativo, un suero canino libre de anticuerpos específicos. Las placas se leyeron en un lector (Sensident Scan) a 414 nm. Como punto de corte se consideró el valor de la densidad óptica (DO) promedio del suero negativo (0,300); todas las muestras con valores inferiores a este se consideraron negativas. La actividad de anticuerpos se midió sobre la base del valor de DO obtenido; se consideraron positivas las muestras que presentaron valores iguales o mayores del punto de corte establecido.

TABLA 1. Muestra probabilística estratificada de perros muestreados por consejo popular del municipio Boyeros. / *Stratified probabilistic sample per district in Boyeros municipality.*

Consejo popular	Población de perros con dueño (fh) = 0.00258	Muestra	Perros muestreados
Armada	7140	18	21
Calabazar	10305	26	29
Nuevo Santiago	8908	23	23
Santiago de las Vegas	7990	21	22
Boyeros	9291	24	25
Wajay	8361	22	22
Altahabana	6114	16	18
Municipio	57992	150	160

Leyenda: (fh) fracción constante.

Análisis estadístico

Se determinó la proporción de individuos de la población que estuvieron en contacto con Parvovirus canino previo a la realización del muestreo, estimado por la presencia de anticuerpos séricos específicos contra el virus (12).

Seroprevalencia: (Animales seropositivos / Total de animales muestreados) *100

Se determinó el intervalo de confianza a 95 % de la proporción de animales seropositivos. Se realizó una estadística descriptiva de los valores de DO (media (\bar{x}), desviación estándar (DE), mínimo (MIN), máximo (MAX) y coeficiente de variación (CV)). Los valores de DO de las muestras positivas se agruparon en los siguientes rangos: Negativos (<0,300); Bajo (0.300 – 0.810) y Alto (>0,810) (13); se realizó un histograma de frecuencias en el programa estadístico STATGRAPHICS Plus versión 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La detección de la respuesta inmune a un agente infeccioso está basada, en su mayor parte, en la determinación de la presencia de anticuerpos en el huésped contra el agente de interés; la medición de estos títulos sigue siendo una técnica eficaz para definir el estatus de defensa del animal o sus poblaciones (14).

Del total de muestras de suero sanguíneo analizadas, 143/160 mostraron valores de DO por encima del punto de corte, lo cual indica la presencia de anticuerpos específicos contra Parvovirus canino, para una seroprevalencia de 95,63 % (Fig. 1). Se estima, con 95 % de confianza, que la proporción de perros con dueño en el municipio Boyeros no vacunados, mayores de un año que son seropositivos a PVC, está entre el 92,53 y el 98,83 %.

Hasta donde los autores conocen, en Cuba no se han realizado estudios previos que refieran valores de seroprevalencia en animales sin historia de vacunación anterior. No obstante a esto, se considera que este por ciento es muy elevado, si se tiene en cuenta que en otras regiones del mundo se describen porcentajes inferiores: en Colombia, donde se utilizó la técnica de HA, se obtuvieron valores de 86 % (15), mientras que en Brasil y en Túnez solo reportaron el 68,7 % y el 53,9 %, respectivamente (16,17).

En los Estados Unidos se publicaron valores de seroprevalencia de PVC por encima del 80 % en poblaciones de perros donde el 75 % eran adultos (18). Otros resultados afirman que la seroprevalencia de PVC se incrementa con la edad, pero solo estudiaron hasta los dos años (19). Algunos autores aseguran que el 95 % de los canes adultos son seropositivos a PVC,

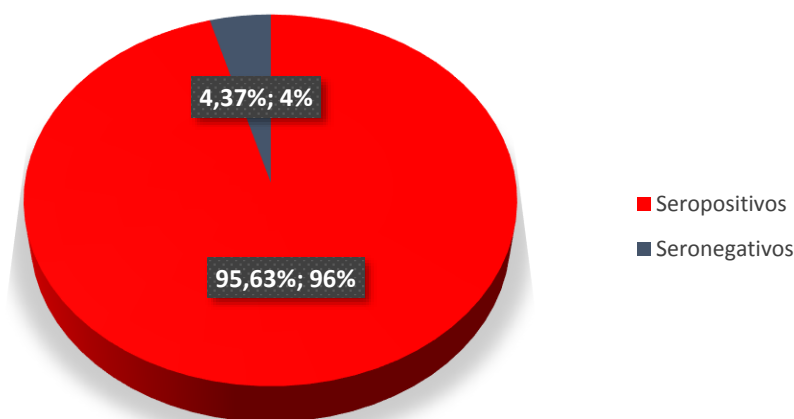


FIGURA 1. Seroprevalencia de Parvovirus canino en perros del municipio Boyeros. / *Seroprevalence of Canine parvovirus in dogs of Boyeros municipality.*

debido a la vacunación anterior o la exposición natural al virus (20). Sin embargo, en la presente investigación se obtuvieron valores similares, debido a una exposición natural, ya que se muestrearon solo animales que nunca habían sido vacunados.

Estos resultados confirman la amplia circulación de PVC en la población canina del área estudiada que, sin duda alguna, puede relacionarse con las características del agente y su facilidad para diseminarse por contacto directo entre animales y con material contaminado (21). Los animales con enfermedad clínica o subclínica tienen la capacidad de liberar al medio grandes cantidades de virus ($>10^9$ partículas virales por gramo de material fecal) durante largos periodos (2,20,22). Esto, unido a las características de resistencia del PVC y las condiciones climáticas, posibilitan su persistencia en el ambiente durante periodos prolongados, con lo que se favorece la contaminación ambiental (23) y se eleva la posibilidad de contacto con los animales (16,24,25).

Después de una vacunación con virus vivo modificado (VVM), el animal es capaz de eliminar partículas virales en sus heces a partir de siete a 15 días posteriores a esta (26). Es común que se vacunen cachorros que conviven con otros perros de diferentes edades que nunca fueron inmunizados y, de esta manera, pudieron tener contacto con el virus y desarrollar títulos de anticuerpos específicos.

La inclusión de animales mayores de un año pudo influir sobre el valor de seroprevalencia observado, puesto que se conoce que la edad de mayor susceptibilidad al contagio con el virus y el padecimiento de la enfermedad oscilan entre

los dos y seis meses de vida (27,28). Durante este tiempo, los canes pudieron estar en contacto con el virus y no enfermar, desarrollar la enfermedad subclínica o clínica y haberse recuperado, con la consecuente respuesta inmunológica expresada por la presencia de títulos de anticuerpos séricos específicos. Sin embargo, algunos animales pudieron haber muerto en este periodo de tiempo como consecuencia de la gravedad del cuadro clínico.

Los perros adultos son menos susceptibles de enfermar, debido a la menor actividad mitótica del intestino; pero también se pueden infectar y presentar algunos signos clínicos poco específicos, como leucopenia moderada transitoria, letargia y pérdida de peso (29).

La prueba de ELISA mide valores de DO que se correlacionan con los títulos de anticuerpos específicos contra PVC (30). Al realizar un análisis descriptivo de la DO en los sueros sanguíneos de los perros analizados (Tabla 2) se mostró, de forma general, niveles superiores al punto de corte (0,300), pero se consideran niveles bajos de anticuerpos. Los valores de DO que se correlacionan con títulos de anticuerpos protectores tienen que estar por encima de 0,810 (13). Sin embargo, existe una alta variabilidad de las observaciones alrededor de la media, como se puede observar al analizar los estadígrafos de dispersión (DS y CV) con valores de DO que oscilan entre 0,195 y 2,880.

De los animales estudiados, solamente el 4,38 % mostró valores de DO por debajo del punto de corte, el resto se consideró positivo. Se puede observar que aproximadamente la cuarta parte del total de los perros del municipio Boyeros (23,12 %) mostró títulos de anticuerpos protectores (Fig. 2).

TABLA 2. Análisis descriptivo de la DO en los sueros analizados. / *Descriptive analysis of the optical density (OD) in the analyzed sera.*

X (DO)	DS	ES	Mínimo	Máximo	CV (%)
0,717	0,620	0,05	0,195	2,880	85,72

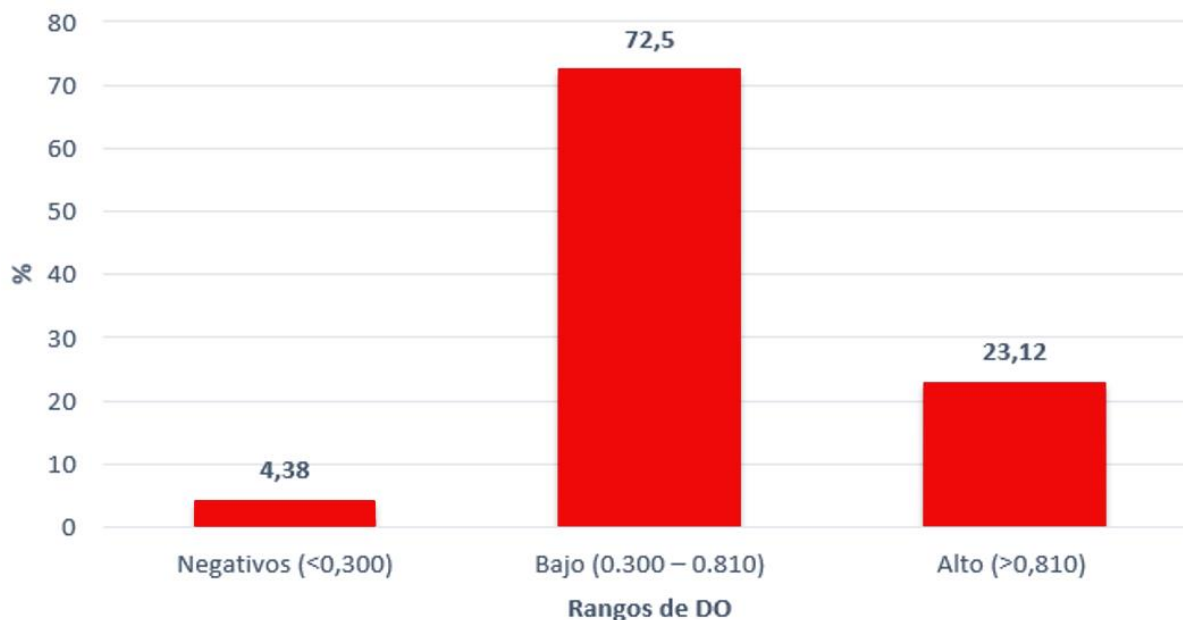


FIGURA 2. Histograma de frecuencia. / *Frequency histogram.*

Puede considerarse como un valor bajo si se compara con un estudio realizado en un refugio de perros al norte de la Florida, donde se observó que el 67,1 % de los animales analizados tenía títulos de anticuerpos protectores contra PVC medidos por IH, pero se desconocía si habían sido vacunados previamente (31).

La tercera parte de la población analizada (72,5 %) mostró títulos de anticuerpos no protectores. Estos resultados se pudieran explicar si se tiene en cuenta que se muestrearon animales adultos, donde los títulos de anticuerpos permanecen altos durante un periodo prolongado, aun cuando no ocurra la reinfestación, pero con el tiempo los títulos tienden a disminuir (4,5,32).

Se debe considerar, además, que aun cuando los títulos de anticuerpos protectores están asociados con la resistencia a la infección, los títulos más bajos de anticuerpos necesariamente no indican una susceptibilidad a la infección (33,34). Si los títulos son bajos es posible una infección localizada, pero el desarrollo de viremia o enfermedad generalizada es imposible (35); por tanto, se puede asegurar que la población de perros estudiados tiene resistencia a las infecciones por PVC.

CONCLUSIONES

Existe una alta seroprevalencia de Parvovirus canino en los perros del municipio Boyeros, La Habana, Cuba, lo que demuestra la circulación del agente en este municipio de La Habana.

REFERENCIAS

1. Ibarra L, Morales M, Acuña P. Aspectos demográficos de la población de perros y gatos en la ciudad de Santiago, Chile. *Avances en Ciencias Veterinarias*. 2003;18(2):13-20.
2. Mauro L. Claves para comprender a la Parvovirus Canina. *REDVET*. 2015;16(2):10.
3. Puentes R. Canine parvovirus: Current status and protection of vaccines against new viral variants circulating in the region. *Veterinaria*. 2002;48(185):5-10.
4. Lorenzana C. Una nueva herramienta para la prevención de la parvovirus canina: Canigen CPV - Clone®. *Animales de compañía*. 2006;5(1):1-8.
5. Hesse R, Tribble B, Rowland R. *Veterinary Microbiology: parvoviridae and circoviridae*. 3ra ed. USA: Wiley

- Blackwell. 2013;ISBN 978-0-4709-5949-7.
6. Sosa T, Hernández E, Hernández A, Gómez D. Epidemiologic surveillance in the production of laboratory dogs in Cuba. Proceedings of the 10th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics. 2003; Available at www.sciquest.org.nz
 7. Nieto A. Detección virológica en cachorros con diagnóstico presuntivo de Parvovirus canino. Trabajo de Diploma. Mayabeque, Cuba, Universidad Agraria de la Habana. 2016.
 8. Wikipedia. Municipio Boyeros. Version kiwix-0.9-beta5-src.tar. Software. 2013.
 9. Pfeiffer DU. Epidemiología veterinaria: Una introducción. Inglaterra: Universidad de Londres. 2002.
 10. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación. 5ta ed. México: McGraw-Hill. 2010;ISBN 978-607-15-0291.
 11. OIE World Organisation for Animal Health. Terrestrial Animal HealthCode [en línea]. Ginebra; 07 julio 2014 [Consulta: 08 noviembre 2016]. Disponible en: http://www.oie_terrestrial_code_chapitre_aw_stray_dog_pop_mgmt.htm
 12. Thrusfield M. Veterinary epidemiology. 3rd ed ed. USA: Blackwell Publishing. 2005;ISBN 978-1-405-15627-1.
 13. DRG. Canine Parvo Virus ELISA. CPVELISA Ver.10.1. USA; 2012.
 14. Riedl M, Truyen U, Reese S, Hartmann K. Prevalence of antibodies to canine parvovirus and reaction to vaccination in client-owned healthy dogs. Veterinary Record. 2015;177(23):597-601.
 15. Ariza S, Fuentes D, Vera V, Villamil L, Ramírez GC. Descripción del comportamiento de la parvovirus canina en cuatro clínicas de la ciudad de Bogotá. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 2003;16(3)4.
 16. Dezengrini R, Weiblen R, Furtado E. Seroprevalence of parvovirus, adenovirus, coronavirus and canine distemper virus infections in dogs of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. Cienc. Rural. 2007;37(1)2-8.
 17. Chabchoub A, Hajjem S, Calleja C, Chalvet-Monfray K, Landolsi F. *et al.* Seroepidemiological survey on canine distemper and canine parvovirus in the south of Tunisia. Revue Méd. Vét. 2008;159(4)220-225.
 18. Litster A, Pressler B, Dubovi A. Accuracy of a point-of-care ELISA test kit for predicting the presence of protective canine parvovirus and canine distemper virus antibody concentrations in dogs. The Veterinary Journal. 2012;193:363-366.
 19. Acosta-Jamett J, Surot D, Cortes M, Marambio V, Valenzuela C. Epidemiology of canine distemper and canine parvovirus in domestic dogs in urban and rural areas of the Araucanía region in Chile. Vet Microbiol. 2015;178:260-264.
 20. Sherding R. Intestinal Viruses. En: Birchard S. y Sherding R. Saunders manual of small animal practice. 3ra ed. USA, Saunders Elsevier. 2006;158-162.
 21. Rivadeneira P, Gómez NV. Parvovirus Canino: su evolución. Veterinaria Argentina, XXVIII. 2011;273,18.
 22. Grellet A. La diarrea de destete en el cachorro. Veterinary Focus. 2016;26(1):14-21.
 23. Decaro N, Crescenzo G, Desario C. Long-term viremia and fecal shedding in pups after modified-live canine parvovirus vaccination. Vaccine. 2014;32:3850-3853.
 24. Hoelzer K, Parrish C. The emergence of parvoviruses of carnivores. Vet Re 2010;41(39):13.
 25. Decaro N, Buonavoglia C. Canine parvovirus. A review of epidemiological and diagnostic aspects

- with emphasis on type 2c. *Vet. Micro.* 2012;155:1-12.
26. Aguilar M. Análisis de la sensibilidad de métodos diagnósticos comúnmente utilizados en hospitales veterinarios para el diagnóstico de parvovirus canino. [Tesis de Maestría]. Toluca, México: Universidad autónoma del estado de México. 2014.
 27. Lefebvre S. Actualización sobre la epidemiología de la parvovirus canina. *Veterinary Focus.* 2013;23(2):23-24.
 28. Miranda C, Carvalheira J, Parrish C, Thompson G. Factors affecting the occurrence of canine parvovirus in dogs. *Vet Microbiol.* 2015;180(1-2):59-64.
 29. Decaro N. Parvovirus canino. *Veterinary Focus.* 2016;26(1):39-44.
 30. Valencia S, Rodríguez O, Martínez A, Saldivia S. Humoral immune status against Distemper Virus, Canine Parvovirus and *Leptospira* in a breeding kennel. *REDVET.* 2009;10(4):1-15.
 31. Lechner E, Crawford C, Levy J, Edinboro C, Dubovi E, Caligiuri R. Prevalence of protective antibody titers for canine distemper virus and canine parvovirus in dogs entering a Florida animal shelter. *JAVMA.* 2010;236(12):1317-1321.
 32. Schoeman J, Goddard A, Leisewitz A. Biomarkers in canine parvovirus enteritis. *New Zealand Veterinary Journal.* 2013;26:1-6.
 33. Abdelmagid O, Larson L, Payne L. Evaluation of the efficacy and duration of immunity of a canine combination vaccine against virulent parvovirus, infectious canine hepatitis virus, and distemper distemper. *Vet Ther.* 2004;5:173-186.
 34. Greene C, Schultz R. Immunoprophylaxis. En: Greene C. *Infectious diseases of the dog and cat.* 3ra ed. Philadelphia: Saunders. 2006;1069-1119.
 35. Greene CE, Decaro N. Canine Viral Enteritis. En: Greene CE. *Infectious diseases of the dog and cat.* 4 ed. United States of America: Elsevier. 2012.