



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**VACUNAS PARA CANINOS: DURACIÓN DE LA INMUNIDAD Y
RECOMENDACIONES PARA SU UTILIZACIÓN.**

Por

FRANCO MORENO, Gabriela Verónica

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias

Orientación: Higiene, Inspección-control y
Tecnología de los Alimentos.

Modalidad: Revisión Monográfica

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2016**

PÀGINA DE APROBACIÒN:

Presidente de mesa:

Dr. Ana Acevedo

Segundo miembro (Tutor):

Dr. Rodrigo Puentes

Tercer miembro:

Dr. Alvaro Hernandez

Fecha:

22 de diciembre 2016

Autores:

Br. Gabriela Franco

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, sin quienes este logro no hubiera sido posible.

A mis amigos, compañeros de estudio y de trabajo, gracias por su apoyo incondicional.

A mi tutor, Dr. Rodrigo Puentes, por su guía y paciencia.

A nuestra casa de estudios, por todos los recuerdos inolvidables.

A todos y cada uno, muchas gracias.

TABLA DE CONTENIDOS

PÀGINA DE APROBACIÒN:	i
AGRADECIMIENTOS	ii
TABLA DE CONTENIDOS	iii
LISTAS DE CUADROS GRAFICOS Y FIGURAS	vi
1. RESUMEN.....	1
1. SUMMARY	2
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general:	3
2.2. Objetivos específicos:	3
3. INTRODUCCIÒN	4
4. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	6
4.1 TIPOS DE VACUNAS	6
4.2 HISTORIA DE LAS VACUNAS	6
4.2.1. Virus Distemper canino (CDV).....	7
4.2.2. Parvovirus canino tipo 2 (CPV-2).....	7
4.2.3. Adenovirus canino tipo 1 (CAV-1).....	8
4.2.4. Virus de la Rabia.....	8
4.2.5. Virus de la Parainfluenza canina (CPiV)	8
4.2.6. <i>Leptospira interrogans</i>	9
4.2.6. <i>Bordetella bronchiseptica</i>	9
4.2.7 Coronavirus Canino (CCoV)	9
4.3. ETIOPATOGENIA DE LAS ENFERMEDADES.....	9
4.3.1 Virus Distemper canino	9
4.3.2 Parvovirus canino tipo 2.....	11
4.3.3 Adenovirus canino tipo 1	13

4.3.4 Virus de la Rabia.....	15
4.3.5 Virus de la Parainfluenza canina (CPIV)	16
4.3.6 <i>Leptospira interrogans</i>	17
4.3.7 <i>Bordetella bronchiseptica</i>	19
4.3.8 Coronavirus Canino (CCoV)	19
4.4 RESPUESTA INMUNE, PROTECCIÓN Y DURACIÓN DE LAS VACUNAS CANINAS	21
4.4.1. Virus de distemper canino.....	22
4.4.2. Parvovirus canino.....	23
4.4.3. Adenovirus canino.....	24
4.4.4. Virus de la Rabia.....	25
4.4.5. <i>Leptospira interrogans</i>	26
4.4.6. <i>Bordetella bronchiseptica</i> y Virus de la Parainfluenza canina.....	27
4.5 INTERFERENCIAS EN LA EFICACIA DE LA VACUNACIÓN EN CANINOS	28
4.6 REACCIONES ADVERSAS A LAS VACUNAS.....	32
4.6.1. Reacciones sistémicas a la vacunación.....	33
4.6.1.1. Reacciones sistémicas no específicas.....	33
4.6.1.2. Reacciones de Hipersensibilidad tipo 1	33
4.6.1.3. Reacciones de hipersensibilidad tipo 2.....	33
4.6.1.4. Reacciones de hipersensibilidad tipo 3.....	34
4.6.1.5. Inmunosupresión	34
4.6.1.6. Virulencia residual en las vacunas.....	35
4.6.2. Reacciones locales a la vacunación.	35
4.6.2.1. Dolor	35
4.6.2.2. Inflamación, nódulos y masas.....	35
4.6.2.3. Alopecias	36

4.6.2.4. Abscesos	36
4.7 PLANES DE VACUNACION INTERNACIONAL Y NACIONAL.....	36
4.8. TEST SEROLOGICOS COMERCIALES PARA MONITOREAR LA INMUNIDAD	39
4.9. VACUNAS DISPONIBLES EN PLAZA Y SU COMPOSICIÓN.....	40
5. CONCLUSIONES.....	42
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	46

LISTAS DE CUADROS GRAFICOS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla 1: Recomendaciones para la vacunación de los caninos según WSAVA

Tabla 2: Esquema general de los planes de vacunación en caninos utilizados en Uruguay

Tabla 3: Vacunas de Laboratorios Intervet

Tabla 4: Vacunas de Laboratorios Merial

Tabla 5: Vacunas de Laboratorios Tecnovax

Tabla 6: Vacunas de Laboratorios Virbac

Tabla 7: Vacunas de Laboratorios Zoetis

1. RESUMEN

Debido al importante rol que ocupan los animales de compañía, la medicina veterinaria se ha enfocado en la prevención de las patologías, entre otras estrategias a través del uso de vacunas. Las vacunas caninas se dividen en “core” y “non-core”. Las vacunas “core” son diseñadas para prevenir las enfermedades de distribución mundial potencialmente mortales, y deben ser administradas a todos los caninos independientemente de las circunstancias o situación geográfica. Estas protegen frente a la infección por Parvovirus Canino tipo 2 (CPV-2), Virus de Distemper Canino (CDV) y Adenovirus Canino tipo 1 (CAV-1). La vacuna frente al Virus de la Rabia es considerada “core”, en áreas donde la infección es endémica. Las vacunas “non-core” deben ser administradas a los animales cuya área geográfica, medio ambiente o estilo de vida los exponga a enfermedades específicas. Dentro de este grupo se encuentran las vacunas frente a *Leptospira interrogans* serovares canicola e icterohaemorrhagiae, *Bordetella bronchiseptica*, *Borriela burgdorferi*, Virus de la Parainfluenza e Influenza. Varios trabajos afirman que la protección frente a los patógenos considerados dentro de las vacunas “core” se mantiene hasta por 4 años, un período de tiempo mayor al recomendado por los fabricantes para la revacunación. *The World Small Animal Veterinary Association*, en su guía para la vacunación de los caninos recomienda una dosis inicial para las vacunas consideradas “core” a las 6-8 semanas de vida, y luego vacunar cada 2-4 semanas hasta las 16 semanas de vida, un booster a las 26 a 52 semanas y luego vacunación trianual. Uruguay no es miembro de esta organización y en las clínicas veterinarias de nuestro país se utilizan distintos planes de vacunación, que van desde 3 a 5 dosis en cachorros a partir de los 30 a 45 días, con revacunaciones anuales. Las vacunas son productos biológicos, y como tales pueden provocar reacciones adversas complejas en el organismo. El propósito de esta revisión bibliografía es por lo tanto, actualizar la información disponible sobre el uso de las vacunas para caninos, considerando los últimos informes internacionales al respecto y el conocimiento científico disponible, de forma tal que pueda servir a los profesionales para que hagan el mejor uso de las mismas, de forma optimizada y segura.

1. SUMMARY

Due to the important role of companion animals, veterinary medicine has focused on the prevention of pathologies, among other strategies through the use of vaccines. Canine vaccines can be divided into core and non-core vaccines. Core vaccines, designed to prevent global, life-threatening diseases, are those which all dogs must receive, regardless of circumstances or geographical location. These vaccines protect against canine distemper virus (CDV), canine adenovirus (CAV) and the variants of canine parvovirus type 2 (CPV-2). In areas where rabies virus infection is endemic, vaccination against this agent should be considered core. Noncore vaccines are those that are required by only those animals whose geographical location, local environment or lifestyle places them at risk of contracting specific infections. This classification includes *Leptospira interrogans* serovares canicola and icterohaemorrhagiae, *Bordetella bronchiseptica*, *Borriela burgdorferi*, Parainfluenza and Influenza canine virus. Several studies state that protection against core vaccines persist for four years, which is longer than the period recommended by vaccine manufacturers for revaccination. The World Small Animal Veterinary Association in its guide for canine vaccination recommends that initial core vaccination should be at 6–8 weeks of age, then every 2–4 weeks until 16 weeks of age, a booster vaccine at 26 or 52 weeks of age, and then triennial vaccination. Uruguay is not a member of this organization. In veterinary clinics of our country, different vaccination schedules are used, varying from 3 to 5 doses in puppies from 30 to 45 days, with annual revaccinations. Vaccines are biological products, so they can cause complex adverse reactions in the organism. Thus the aim of this literature review is to update the available information on the use of canine vaccines, taking into account the latest international reports and available scientific knowledge, so that professionals make the best use of them, in an optimized and safe way.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general:

Realizar una revisión bibliográfica actualizada sobre las vacunas caninas existentes en nuestro país, discutir los planes de vacunación utilizados así como la protección inducida por estas.

2.2. Objetivos específicos:

2.2.1. Relevar las principales marcas de vacunas caninas comercializadas en nuestro país, describiendo su composición y estado de los microorganismos o antígenos presentes.

2.2.2. Describir los planes de vacunación más utilizados o sugeridos en nuestro medio y comparar con las recomendaciones internacionales actualizadas.

2.2.3. Describir la respuesta inmune esperada contra los principales patógenos presentes en las vacunas y comparar con los planes de vacunación utilizados

2.2.4. Actualizar las evidencias científicas existentes sobre los factores que interfieren en la obtención de una adecuada respuesta inmune (inmunidad materna, parasitosis, drogas inmunosupresoras, etc.).

2.2.5. Describir los principales efectos adversos de las vacunas utilizadas en caninos y discutir su importancia práctica.

3. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas ha aumentado el interés en la salud de los animales de compañía, y consecuentemente se han diseñado estrategias sanitarias enfocadas en la prevención. Estas incluyen planes de vacunación frente a las principales enfermedades que afectan a los caninos. Las vacunas caninas se dividen en “core” y “non-core” (Day y col., 2015). Las vacunas “core” son aquellas diseñadas para prevenir las enfermedades potencialmente mortales de distribución mundial y deben ser administradas a todos los caninos independientemente de las circunstancias o situación geográfica. Estas protegen frente a la infección por Parvovirus Canino tipo 2 (CPV-2), Virus de Distemper Canino (CDV) y Adenovirus Canino tipo 1 (CAV-1). La vacuna frente al Virus de la Rabia es considerada “core”, en áreas donde la infección es endémica (Day y col., 2015).

El CDV pertenece a la familia *Paramyxoviridae*. Es el agente causal de una enfermedad sistémica grave, el moquillo canino. Entre los signos se incluyen descarga nasal purulenta, tos, disnea, neumonía, diarrea, vómitos, pústulas, hiperqueratosis de las almohadillas plantares, hipoplasia del esmalte dental, inclinación de la cabeza, nistagmo, parálisis parcial o completa, demencia, mioclonias y convulsiones. El extenso uso de las vacunas ha contribuido enormemente a mantener la enfermedad bajo control (Martella y col., 2008).

CPV-2 pertenece a la familia *Parvoviridae* y es uno de los agentes causales más frecuente de gastroenteritis hemorrágica en animales jóvenes de entre uno y seis meses de edad, aunque se han descrito casos en perros adultos de hasta dos años de edad (Decaro y col., 2008a). Su cuadro clínico se presenta con enteritis hemorrágica, linfopenia aguda, anorexia, depresión del sensorio, vómitos, diarrea que varía desde mucosa a sanguinolenta, fiebre y una frecuente deshidratación marcada. En cachorros la mortalidad alcanza un 70%, mientras que en perros adultos es menor al 1% (Hoelzer y Parrish 2010).

CAV-1 pertenece a la familia *Adenoviridae* y es el responsable de la Hepatitis Infecciosa Canina. La Hepatitis Infecciosa canina es una enfermedad sistémica más severa en animales jóvenes, produce una hepatitis aguda necro-hemorrágica. Los síntomas incluyen depresión, pérdida de apetito, aumento de la frecuencia cardíaca, hiperventilación, vómitos, diarrea, opacidad corneal ("ojo azul") y nefritis intersticial. La mortalidad es de un 10 a un 30%. La vacunación sistémica ha reducido la circulación de los CAV en la población canina (Decaro y col., 2008b).

Las vacunas “non-core” son aquellas vacunas que deben ser administradas a los animales cuya área geográfica, medio ambiente o estilo de vida los exponga a enfermedades específicas. Dentro de este grupo se encuentran las vacunas frente a *Leptospira interrogans* serovares canicola e icterohaemorrhagiae, *Bordetella bronchiseptica*, *Borrelia burgdorferi*, Virus de la Parainfluenza e Influenza. La vacuna frente a Coronavirus Canino (CCoV) no es recomendada, ya que la infección por este virus es generalmente subclínica (Day y col., 2015).

Varios trabajos afirman que la protección frente a los patógenos considerados dentro de las vacunas “core” se mantiene por un período de tiempo mayor al recomendado

por los fabricantes para la revacunación. Mitchell y col. (2012) evidencian una inmunidad sostenida por más de 18 meses, mientras que otros autores afirman que la misma se mantiene por un período de 3 años (Larson y Schulz 2007a, 2007b; Anderson y col., 2014), o hasta 4 años (Abdelmagid y col., 2004; Mouzin y col., 2004). Por otro lado, se propone que en las vacunas “*non-core*”, la inmunidad se mantiene por un año (Schultz, 2006).

The World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), en su guía para la vacunación de los caninos recomienda una dosis inicial para las vacunas consideradas “*core*” a las 6-8 semanas de vida, y luego vacunar cada 2-4 semanas hasta las 16 semanas de vida, un *booster* a las 26 a 52 semanas y luego vacunación trianual. La WSAVA enfatiza la importancia de la inmunidad poblacional y no tanto la revacunación individual de los animales, ya que de esta forma se reduce el número de animales susceptibles a la infección y por lo tanto la prevalencia de las mismas. Uruguay no es miembro de esta organización y en las clínicas veterinarias de nuestro país se utilizan distintos planes de vacunación, que van desde 3 a 5 dosis en cachorros a partir de los 30 a 45 días, con revacunaciones anuales.

Las vacunas son productos biológicos por lo que pueden provocar reacciones adversas complejas en el organismo. Entre ellos se encuentran reacciones en el lugar de inyección, enfermedades transitorias no específicas postvacunales, reacciones de hipersensibilidad de tipo 1, tipo 2 y tipo 3, tumores e inmunosupresión post-vaccinal (Welborn y col., 2011).

4. REVISION BIBLIOGRAFICA

4.1 TIPOS DE VACUNAS

Las vacunas se pueden dividir en infecciosas y no infecciosas en la naturaleza. La mayoría de las vacunas utilizadas en los animales de compañía contienen organismos atenuados, es decir con su virulencia reducida ("*modified live virus*" (MLV) o vacunas atenuadas). Los patógenos se encuentran intactos y viables, estimulan la inmunidad induciendo una infección de bajo nivel al replicarse en el animal sin producir una patología tisular significativa o signos clínicos de enfermedad infecciosa. Las vacunas infecciosas presentan la ventaja de inducir una inmunidad más efectiva en sitios anatómicos importantes cuando es administrada de forma parenteral, y producen una inmunidad celular y humoral más fuerte. Algunas vacunas infecciosas se presentan para ser administradas en las mucosas directamente (intranasales u orales), son más efectivas en estimular una inmunidad en mucosas protectora. Las vacunas con vectores recombinantes también se clasifican como infecciosas aunque el organismo vector no sea importante o patogénico para la especie a vacunar. Si el animal a vacunar no presenta anticuerpos calostrales, generalmente una sola dosis de este tipo de vacunas es suficiente para estimular una inmunidad protectora (Day y col., 2015).

Las vacunas no infecciosas (también llamadas vacunas muertas o inactivadas, incluidas las vacunas ADN) contienen un organismo inactivado, pero antigénicamente intacto, o un antígeno natural o sintético derivado de ese organismo (por ej. proteínas recombinantes), o el ADN que puede codificar tal antígeno. Los organismos no infecciosos no son capaces de infectar, replicarse o inducir signos clínicos de enfermedad infecciosa. Generalmente para estimular una respuesta protectora requieren de múltiples dosis (incluso en animales adultos) y el uso de adyuvantes para aumentar su potencia. Estas vacunas se administran de forma parenteral y es menos probable que estimulen ambas ramas, la inmunidad humoral y la celular. Generalmente la protección inducida es de menor duración comparándola con la inducida por las vacunas infecciosas (Day y col., 2015). Cabe destacar que las vacunas ADN tienen la potencialidad de inducir una respuesta inmune aún en presencia de anticuerpos calostrales (Dhama y col., 2008).

4.2 HISTORIA DE LAS VACUNAS

En la segunda mitad del siglo XX se desarrollaron las vacunas eficaces para el control de enfermedades infecciosas de los animales de compañía, con excepción de la vacuna contra el virus de la Rabia, la cual se introdujo antes en el tiempo. Las primeras vacunas fueron desarrolladas para controlar las enfermedades mortales y luego se avanzó hacia el control de enfermedades no mortales (Appel, 1999).

4.2.1. Virus Distemper canino (CDV)

La primer vacuna frente a CDV fue diseñada a partir de tejido cerebral inactivado con formalina de un canino con encefalitis causada por CDV por Puntoni en 1923. Las vacunas inactivadas frente a esta infección no eran efectivas en controlar la enfermedad y han dejado de utilizarse comercialmente. En 1984 Appel y col. describieron que la vacunación con el virus del Sarampión brindaba protección frente a la enfermedad pero no frente a la infección por CDV. La primer vacuna viva modificada (MLV) desarrollada frente a la infección por este virus se desarrolló en 1945 por Green y Carlson, quienes atenuaron el virus haciendo 50 pasajes en hurones. La vacuna fue ampliamente utilizada, pero luego de la vacunación ocurrían con frecuencia síntomas clínicos e incluso la muerte de los animales (Appel, 1999). Las cepas que controlaron la enfermedad y aún son utilizadas en las vacunas MLV en la actualidad son la cepa Lederle (Cabasso y Cox, 1952), la cepa Ondersteport (Haig, 1956) ambas desarrolladas en primer lugar al adaptar al virus a replicarse en huevos embrionados, y luego fueron adaptadas a cultivos celulares. La cepa Rockborn (1960) se desarrolló al adaptar al virus a cultivos celulares de riñón canino. A finales de los noventa se desarrolló una vacuna recombinante, en un poxvirus se insertaron genes que codifican la proteína F de fusión de membrana y la proteína H, una hemoaglutinina, ambas importantes para inducir inmunidad frente a CDV (Stephensen y col., 1997). Sixt y col. (1998) fueron los primeros en diseñar una vacuna de ADN plasmidico frente al CDV, la misma contenía los genes para la proteína F de fusión de membrana y la hemoaglutinina H.

4.2.2. Parvovirus canino tipo 2 (CPV-2)

Luego de su descubrimiento a finales de los años setenta rápidamente se inmunizaron los caninos con vacunas frente a CPV-2 inactivadas o con el virus heterologo FPV (feline panleukopenia virus), estas controlaron pobremente la enfermedad (Appel y col. 1979; Pollock y Carmichael, 1982). A principio de la década de los ochenta se desarrolló una vacuna MLV frente a la infección por CPV-2, la cual era segura y más efectiva que las utilizadas previamente (Carmichael y col., 1981,1983). Estas vacunas contenían la cepa CPV-2, la cual es utilizada en la mayoría de las vacunas hoy en día. CPV-2 continuó mutando y se desarrollaron vacunas conteniendo la cepa CPV-2b (Appel, 1999). López de Turiso y col. (1992) desarrollaron una vacuna recombinante utilizando un baculovirus para obtener la proteína VP2 recombinante. La misma fue inoculada y todos los animales del ensayo obtuvieron títulos de anticuerpos mayores a los establecidos como protectores. En cuanto a las vacunas ADN, Jiang y col. (1998) utilizando el gen VP1 desarrollaron una vacuna ADN que protegía efectivamente. Gupta y col. (2005a), utilizaron el gen VP2 para desarrollar otra vacuna ADN, también efectiva en la protección de los caninos.

4.2.3. Adenovirus canino tipo 1 (CAV-1)

Las primeras vacunas se desarrollaron atenuando el virus por una serie de pasajes en células caninas y suinas (Cabasso y col., 1954,1958). Estas vacunas MLV no eran seguras, producían lesiones renales, el virus era diseminado por orina e inducían la formación de “ojo azul” (opacidad corneal) (Appel, 1999). Para controlar la hepatitis infecciosa canina (HIC) a finales de la década de los setenta se reemplazó el componente CAV-1 por el CAV-2 en la fabricación de vacunas, el cual protegía frente a la HIC sin producir las reacciones adversas causadas por el CAV-1 (Appel y col., 1975).

4.2.4. Virus de la Rabia

La primer vacuna frente al virus de la rabia fue desarrollada por Pasteur (1885) al adaptar un virus de campo a replicarse en conejos a través de varios pasajes intracerebrales. Esta fue utilizada principalmente para la inmunización de personas. En la década de los veinte se desarrollaron vacunas caninas con virus inactivado por éter o cloroformo, el virus se obtuvo a partir de suspensiones de cerebro infectado (Kelsner, 1930). Posteriormente se desarrollaron vacunas atenuadas utilizando pasajes en huevos embrionados, las cuales eran eficaces (Tierkel y col., 1953; Sikes, 1975), pero ocasionalmente producían una enfermedad similar a la rabia en los caninos. Estas vacunas ya no son utilizadas (Appel, 1999). Luego se desarrollaron vacunas inactivadas de mejor calidad, para su fabricación se utilizaban cultivos de células diploides a las cuales se les adaptó el virus de la rabia (Pastoret y col., 1997). En América del Sur se utiliza hace décadas la vacuna Fuenzalida-Palacios, es una vacuna inactivada fabricada a partir de cerebro de rones lactantes (Bonito y col., 2004). Xiang y col. (1994) desarrollaron una vacuna ADN, la cual estimulaba una protección eficaz. Varios investigadores demostraron que vacunas ADN, con el gen para la glicoproteína G, estimula títulos neutralizantes mayores y más duraderos (Rai y col., 2005; Gupta y col., 2005b). Luo y col. (2013) demostraron que un virus de la Rabia expresando la proteína VP2 del CPV-2 era capaz de estimular una respuesta de anticuerpos protectora frente a ambos virus. Por otro lado Wang y col. (2012), desarrollaron una vacuna atenuada bivalente frente a CDV y el virus de la Rabia, utilizando el CDV como vector expresaron la glicoproteína G del virus de la rabia, dicha vacuna generó una respuesta protectora tanto en ratones como en perros. Desde la década de los setenta se han usado vacunas orales en animales silvestres, estos planes de vacunación resultaron exitosos en el control de la infección en los animales reservorios (Mähl y col., 2014)

4.2.5. Virus de la Parainfluenza canina (CPiV)

Las vacunas atenuadas frente a CPiV se desarrollaron en la década de los setenta en combinación con *B. bronchiseptica* en dos presentaciones, una con *B. bronchiseptica* inactivada para ser aplicada en forma parenteral (Chladek y col., 1981; Emery y col., 1976) y la otra con *B. bronchiseptica* atenuada para ser

administrada de forma intranasal (Glickman y Appel, 1981; Kontor y col., 1981). La inmunidad frente a ambos patógenos depende de la IgA en las mucosas, por tanto la presentación para ser usada intranasal protege frente a la infección y enfermedad, mientras que la presentación para ser usada de forma parenteral protege frente a la enfermedad. En la actualidad el CPIV atenuado se encuentra combinado en las vacunas junto a los patógenos “core”.

4.2.6. *Leptospira interrogans*

Vacunas bivalentes con bacterinas de *Leptospira interrogans* serovares canicola e icterohaemorrhagiae se administran desde la década de los cincuenta (Hartman y col., 1984a, 1984b). Están compuestas por células bacterianas completas inactivadas químicamente. Se debe tener en cuenta que la inmunidad inducida es serovar específica (Appel, 1999). Las vacunas con bacterinas son las únicas licenciadas.

4.2.6. *Bordetella bronchiseptica*

Al igual a lo descrito previamente, 2 tipos de vacuna frente a *B. bronchiseptica* se han desarrollado. Una con la bacterina inactivada para ser administrado por inoculación parenteral (Chladek y col., 1981; McCandlish y Thompson, 1978), y otra una MLV de *B. bronchiseptica* combinada a CPIV para ser administrada de forma intranasal (Bey y col., 1981; Glickman y Appel, 1981; Kontor y col., 1981; Shade y Goodnow, 1979). La primera protege frente a la enfermedad, mientras que la segunda protege frente a la enfermedad y la infección (Appel, 1999).

4.2.7 Coronavirus Canino (CCoV)

Edwards y col. (1985) desarrollaron una vacuna inactivada frente a CCoV, la cual protegía frente a la enfermedad pero no frente a la infección del mismo. En 1983 se desarrolló una MLV en combinación con CDV y CPV-2, la misma se retiró del mercado luego de 2 meses ya que los animales desarrollaron problemas nerviosos e incluso algunos caninos murieron (Martin, 1985; Wilson y col., 1986). A finales de la década de los noventa una cepa diferente de CCoV se utilizó para la fabricación de vacunas MLV junto a la CDV también MLV. Se observó el desarrollo de encefalitis postvaccinal y se retiró rápidamente del mercado; esa misma cepa se utilizó junto a una vacuna recombinante de CDV la cual es incapaz de provocar encefalitis (Appel, 1999).

4.3. ETIOPATOGENIA DE LAS ENFERMEDADES

4.3.1 Virus Distemper canino

El CDV pertenece al género *Morbillivirus*, familia *Paramyxoviridae*, subfamilia *Paramyxovirinae*. Son virus envueltos con una nucleocápside helicoidal que

envuelve un genoma ARN, monocatenario de polaridad negativa. Su genoma codifica la proteína de membrana M, las glicoproteínas H (hemaglutinina) y F (proteína de fusión), proteínas asociadas a la transcripción (la fosfoproteína P y la proteína L), y la proteína de la nucleocápside N (Martella y col., 2008). A través de la proteína H el virus se une a los receptores celulares en las primeras etapas de la infección, por tanto una respuesta inmune adecuada frente a esta previene la infección por CDV (von Messling y col., 2001). Luego de la adsorción la proteína F promueve la fusión de la envoltura viral con la membrana celular de la célula huésped, esta proteína también promueve la fusión entre las células huésped formando sincitios (Lamb y col., 2006). Basado en la pronunciada diversidad genética en el gen H, es posible caracterizar la mayoría de las cepas de campo de CDV en nueve linajes genéticos principales, denominados América 1 (NA1), América 2 (NA2), Europa 1/Sur América 1 (EU1/SA1), Europa 2/Europa-animales silvestres (EU2), Europa 3/tipo Ártico (EU3), Asia 1 (AS1), Asia 2 (AS2), Sur África (ZA) y Sur América 2 (SA2) (Panzera y col., 2015). Las cepas encontradas en Uruguay corresponden al linaje Europa 1/Sur América 1 (Panzera y col., 2012; Sarute y col., 2013; 2014)

La infección por el CDV es enzoótica en todo el mundo, además de los caninos domésticos y salvajes infecta otros mamíferos de las familias *Felidae*, *Mustelidae*, *Procyonidae* y *Viverridae*. Son virus sensibles a pH ácido y al calentamiento a 56° C durante treinta minutos. Los solventes lipídicos, detergentes no iónicos, formaldehído y agentes oxidantes lo inactivan. Son virus extremadamente lábiles, aunque pueden permanecer viable durante meses a temperaturas inferiores a los -50° C (Flores, 2007). La transmisión ocurre principalmente por contacto directo entre los animales y con las secreciones nasales, orales y orina de los animales infectados, en las cuales se detectan altos títulos virales. La diseminación del virus en aerosoles por cortas distancias también ha sido descrito, así como la transmisión por fómites en ambientes nosocomiales. A pesar de que los animales una vez recuperados excretan el virus por periodos prolongados, las desinfecciones rutinarias eliminan la infecciosidad viral (Flores, 2007; Martella y col., 2008). El uso sistémico de vacunas ha contribuido a mantener la enfermedad bajo control. Se han observado fluctuaciones temporales en la prevalencia de la enfermedad, con mayor frecuencia durante la estación fría. La susceptibilidad a la infección relacionada con la edad (los cachorros de 3 a 6 meses de edad son más susceptibles que los perros mayores) se correlaciona con la disminución de la inmunidad derivada de la madre (Martella y col., 2008).

El virus ingresa por vía oronasal y comienza a replicarse rápidamente en tejido linfóide, lo que ocasiona una severa inmunosupresión. El período de incubación varía desde una a cuatro o más semanas. A los 3-6 días post infección se observa un pico de fiebre pasajera, el cual coincide con el comienzo de la diseminación viral por el organismo. En esta etapa se pueden observar pérdida de apetito, depresión, descargas nasales y oculares y tonsilitis. A los 6-9 días post infección a través de una viremia asociada a células, el CDV se disemina hacia las células epiteliales de la mayoría de los órganos (Martella y col., 2008).

A partir de este punto el resultado de la infección y la severidad del cuadro clínico varían según la virulencia de la cepa, la edad del animal y el estatus inmunitario del

mismo. Si el canino es capaz de desarrollar una respuesta inmune fuerte, el virus es eliminado del organismo y el animal se recupera completamente de la infección. En cambio si el animal desarrolla una respuesta inmune débil, el virus es capaz de alcanzar el tejido epitelial y el sistema nervioso central (SNC). Los signos clínicos iniciales desaparecen, pero el virus persiste por períodos prolongados en la úvea, las neuronas, el urotelio y en algunas zonas de piel, como las almohadillas plantares. En algunos animales se observa hiperqueratosis y los signos de afección del SNC se retrasan. Cuando el animal es incapaz de montar una respuesta inmune, el virus continúa replicándose y se disemina masivamente por el organismo del animal. Si el virus se localiza en el SNC se observa desmielinización y la mayoría de los animales muere entre 2 y 4 semanas post infección (Martella y col., 2008).

Al virus localizarse en tejidos epiteliales, alrededor de los 10 días post infección se pueden observar síntomas respiratorios, digestivos y dermatológicos. Frecuentemente la sintomatología se exacerba por infecciones bacterianas secundarias. Se observa secreción nasal, tos, disnea, neumonía, diarrea, vómitos y pústulas dérmicas. La hiperqueratosis de las almohadillas plantares y la hipoplasia del esmalte dental son signos típicos de la infección por CDV y se observan en animales que sobreviven a infecciones subclínicas o subagudas. A partir de los 20 días posteriores a la infección, se pueden observar signos neurológicos, como caminar en círculos, inclinación de la cabeza, nistagmo, parálisis parcial o completa, convulsiones y demencia. Se consideran típicos de la infección por CDV espasmos o contracciones musculares involuntarias (mioclonias) y convulsiones precedidas por movimientos masticatorios. A los 40 a 50 días post infección se pueden observar signos neurológicos como consecuencia de la desmielinización crónica inducida por CDV. El virus persiste en el SNC, y la enfermedad evoluciona de forma discontinua pero progresiva. Algunos animales aún pueden recuperarse, pero los movimientos compulsivos (por ejemplo, presionar la cabeza, mioclonias, hipermetría no coordinada) tienden a persistir. Una consecuencia rara de la infección por CDV es la encefalomiелitis crónica de perros maduros, denominada “encefalitis de perro viejo” (ODE), esta ocurre generalmente en animales con un historial completo de vacunación. Se cree que esta enfermedad se desarrolla en perros después de una infección aguda de CDV cuando el virus adquiere la capacidad de persistir en los tejidos nerviosos. Los mecanismos moleculares que desencadenan la persistencia de CDV en el SNC no están claros (Martella y col., 2008).

4.3.2 Parvovirus canino tipo 2

El CPV-2 pertenece a la familia *Parvoviridae*, subfamilia *Parvovirinae*, género *Protoparvovirus*, especie Parvovirus canino tipo 2. Son virus desnudos con cápside icosaédrica y una sola cadena lineal de ADN. Su genoma codifica para dos proteínas no estructurales NS1 y NS2, y 2 proteínas estructurales VP1 y VP2. Esta última es la proteína más abundante formando el 90% de la cápside viral, siendo la principal determinante de la gama de huéspedes y de las interacciones virus-huésped. Cambios en ciertos aminoácidos de VP2 son responsables del surgimiento

de nuevas cepas (Flores, 2007; Hoelzer y Parrish, 2010; Decaro y Buonavoglia, 2012). CPV-2 se aisló por primera vez en 1978 (Appel y col., 1979). Ya en 1979 apareció la primer variante y fue denominada CPV-2a. En 1984 surgió otra variante antigénica y fue denominada CPV-2b (Parrish y col., 1991). Existen al menos cinco o seis cambios entre los aminoácidos de la proteína de la cápside viral VP2 de las cepas CVP-2 y las cepas CPV-2a/b, mientras que entre las nuevas variantes solo un cambio en la posición 426 de Asn a Asp ha sido descrito (Parrish y col., 1991). Un nuevo cambio en la posición 426 dio lugar a una nueva cepa, CPV-2c, descubierta en el año 2000 en Italia (Buonavoglia y col., 2001). CPV-2 fue reemplazado del campo por las nuevas variantes (Miranda y Thompson, 2016).

CPV-2 es un virus sumamente estable en el medio ambiente, pudiendo mantener su infectividad durante meses. Resisten un rango de pH entre 3 y 9, temperaturas de 56° C por 60 minutos, a los tratamientos con solventes lipídicos, tripsina y a la mayoría de los desinfectantes. Los viriones pueden ser inactivados por desinfectantes a base de formalina, hipoclorito de sodio a una concentración de 0.175% durante varias horas, beta propiolactonas, agentes oxidantes y radiaciones ultravioletas (Flores, 2007; Decaro y Buonavoglia, 2012). Cuando surgió esta enfermedad en la década de los 70' tenía una alta tasa de morbilidad y mortalidad debido a la falta de inmunidad natural de la población canina frente a este virus. Actualmente los caninos son más resistentes a la infección por CPV-2, aunque la incidencia de la enfermedad sigue siendo alta entre caninos de seis semanas a seis meses de edad. La infección ocurre por exposición oronasal a heces, fómites o ambientes contaminados. Las personas, equipamientos veterinarios, insectos y roedores pueden actuar como fómites en la diseminación del virus. Se cree que, aunque no ha sido probado, algunas razas como dobermann, rottweiler, labrador, pastor alemán y pitbull parecen ser más susceptibles a la infección por este virus (Day y col., 2015). CPV-2 se ha aislado de gatos domésticos (en los cuales causa una infección leve), mapaches, perros mapaches asiáticos, guepardos, leones de montaña, gatos de bengala y pandas rojos (Flores, 2007; Hoelzer y Parrish, 2010; Decaro y Buonavoglia, 2012).

Dado que CPV-2 para su replicación necesita células en división activa, las manifestaciones clínicas de la enfermedad dependen en gran medida de la edad del huésped. En los animales mayores de aproximadamente 4 semanas, el virus se replica principalmente en los tejidos que contienen células proliferantes, incluyendo la médula ósea, los ganglios linfáticos, el bazo en algunos casos y las células progenitoras en el criptas de Lieberkuühn en el intestino. Cuando la infección ocurre en animales neonatos de 2 a 3 semanas de edad se observa replicación viral en el miocardio. El CPV-2 reconoce como tejidos blanco para su replicación las criptas intestinales y los órganos linfoides, pero el virus puede propagarse a todos los tejidos, incluido el cerebro. En casos raros, las infecciones in-útero pueden llevar al aborto o a la replicación viral generalizada en numerosos órganos fetales. La forma clínica más característica inducida por CPV-2 es la enteritis hemorrágica, cuya extensión depende de los títulos de anticuerpos maternos en los cachorros en el momento de la infección. El virus ingresa por vía oronasal, se replica en el tejido

linfoide próximo al sitio de entrada (por lo general en la orofaringe) para así alcanzar el torrente sanguíneo. En la fase de viremia el virus llega a los órganos con alta tasa de división celular, tales como la médula ósea, órganos linfopoyéticos y las criptas del yeyuno e íleon. Los signos clínicos ocurren después de un período de incubación que varía entre 2 a 14 días, pero generalmente es de 4 a 7 días. La consecuencia inmediata de la infección intestinal por CPV-2 es el aplanamiento de las vellosidades, el colapso y la necrosis epitelial con exposición de la lámina propia de la mucosa. Esto provoca una diarrea por mala absorción frecuentemente hemorrágica debido al sangrado de los capilares subyacente al revestimiento epitelial de la mucosa. Esta gastroenteritis hemorrágica se caracteriza por un inicio repentino con depresión, anorexia, vómitos frecuentes, babeo, fiebre, dolor abdominal y diarrea con sangre. La depresión, anorexia y vómitos por lo general se observan de 12 a 24 horas antes del inicio de la diarrea. La pérdida del epitelio intestinal permite la penetración de bacterias en el torrente sanguíneo. A medida que el cuadro progresa los animales pueden presentar deshidratación, hipovolemia y shock. Si en esta etapa no reciben tratamiento de fluidoterapia la enfermedad progresa y difícilmente puedan sobrevivir. El CPV-2 se excreta en grandes cantidades hasta por 20 días. El final de la diseminación viral fecal está probablemente relacionado con el desarrollo de la inmunidad. Debido a la replicación viral en las células linfoides de la médula ósea, la leucopenia es un hallazgo constante. Sin embargo, el recuento total de glóbulos blancos puede estar incluso dentro de los rangos normales debido a la linfopenia inducida por virus concomitante con la neutrofilia consecuente a infecciones por bacterias oportunistas. El agotamiento linfoide puede implicar la pérdida de todas las células progenitoras mieloides, disminuyendo el número de trombocitos circulantes, eritrocitos, granulocitos y mastocitos. La inmunosupresión resultante permite el establecimiento de infecciones secundarias por otros virus, bacterias, hongos o parásitos. La miocarditis puede ocurrir en los animales recién nacidos después de la infección intrauterina o en las primeras seis semanas de vida. Se produce muerte súbita o signos inespecíficos con el posterior desarrollo de insuficiencia cardíaca. En estos animales no se observan signos intestinales, probablemente debido a la menor tasa de replicación del epitelio intestinal al inicio de la vida. Esta forma ya no se observa ya que casi todos los cachorros están protegidos por anticuerpos derivados de la madre. La tasa de mortalidad por la infección con CPV-2 en los cachorros puede ser alta, hasta 70%, pero menor al 1% en perros adultos. Si los animales sobreviven a la infección aguda, normalmente se produce la recuperación completa (Flores, 2007; Hoelzer y Parrish, 2010; Decaro y Buonavoglia, 2012).

4.3.3 Adenovirus canino tipo 1

El CAV-1 pertenece a la familia *Adenoviridae*, género *Mastadenovirus*. Es un virus de estructura icosaédrica, desnudo con un genoma ADN bicatenario lineal. Está relacionado genética y antigénicamente con el CAV-2, con un 75% de similitud a nivel de nucleótidos. El genoma codifica aproximadamente 40 proteínas, con genes

presentes en las dos cadenas de ADN, transcritos en direcciones opuestas. Este está dividido en 11 regiones de transcripción en base a la regulación temporal de expresión, cinco son tempranas (E1A, E1B, E2, E3 y E4), dos intermedias (IX y IVa2) y una tardía (que origina cinco mARNs - L1 a L5). De estas regiones, las tempranas codifican proteínas no estructurales y las tardías codifican proteínas estructurales (Flores, 2007; Decaro y col., 2008b).

CAV-1 es resistente a varios desinfectantes, a solventes orgánicos y a condiciones ambientales, donde pueden sobrevivir por varios días en fómites. Son inactivados si se calientan a 60° C por más de 5 minutos y por desinfectantes a base de yodo, fenol o hidróxido de sodio. Es una enfermedad de distribución mundial, la transmisión ocurre por contacto directo o por contacto indirecto con excreciones y secreciones contaminadas como la saliva, heces, secreciones respiratorias y orina. En esta última, la excreción viral puede persistir hasta por 9 meses luego de la recuperación, siendo estos animales la principal fuente de diseminación de CAV-1. Los animales susceptibles adquieren la infección por vía oronasal o conjuntival o indirectamente por el contacto con fómites contaminados. Las vacunas han disminuido la enfermedad en las poblaciones caninas, y una sola dosis se considera protectora en ausencia de MDA (anticuerpos maternos) (Flores, 2007; Decaro y col., 2008b).

CAV-1 es el responsable de la hepatitis infecciosa canina (HIC), aunque la mayoría de las infecciones por este son inaparentes. La HIC afecta principalmente a los animales no vacunados menores de seis meses, siendo además más severa que en adultos. La enfermedad suele presentarse de forma aguda, y los animales que sobreviven a esta fase tienen un pronóstico favorable. Después del ingreso por vía oronasal o conjuntival, el virus se replica inicialmente en las amígdalas y las placas de Peyer, diseminándose a los linfonodos regionales y, finalmente, llegando a la circulación sanguínea. La fase de viremia se produce entre el cuarto y el octavo día post infección, resultando en la diseminación del virus a varios órganos, como hígado, riñones, bazo y pulmones. Las células parenquimatosas y endoteliales son las células blanco para la replicación del CAV-1. El período de incubación en perros es de 4 a 6 días después de la ingestión de material infeccioso y de 6 a 9 días después del contacto directo con perros infectados. La fiebre (> 40° C) es el primer signo clínico y muestra un curso bifásico. Después del primer pico febril (1-2 días), algunos perros se recuperan de la infección. Los perros que muestran un segundo pico de hipertermia frecuentemente sufren una forma más severa de HIC. Los síntomas comúnmente observados son depresión, pérdida de apetito, aumento de la frecuencia cardíaca, hiperventilación, vómitos y diarrea. El dolor abdominal y la distensión pueden ocurrir como resultado de la acumulación de líquido serosanguinolento o hemorrágico y agrandamiento del hígado. Frecuentemente, se observa diátesis hemorrágica con epistaxis, congestión o hemorragia de las mucosas y la piel. El distress respiratorio también se puede observar como consecuencia de laringitis, traqueítis y, con menor frecuencia, neumonía. Los signos neurológicos (hipersalivación, ataxia y convulsiones) son raros en perros y se asocian con daño vascular en el sistema nervioso central (SNC). La opacidad corneal ("ojo azul") y la nefritis intersticial pueden ocurrir 1 a 3 semanas después de

la recuperación debido a la deposición de complejos inmunes. Los hallazgos hematológicos incluyen leucopenia, aumento de las transaminasas séricas (sólo en las formas graves de la enfermedad) y trastornos de la coagulación asociados con diseminación intravascular. En animales recuperados de HIC puede presentarse nefritis intersticial e iridociclitis con edema corneal. La tasa de mortalidad es del 10% al 30%. Las coinfecciones con CCoV, CDV o CPV-2 pueden exacerbar la enfermedad, aumentando las tasas de mortalidad (Flores, 2007; Decaro y col., 2008b).

4.3.4 Virus de la Rabia

El virus de la Rabia pertenece al orden *Mononegavirales*, género *Lyssavirus*, genotipo 1, variantes 1 y 2. Presentan una morfología característica en forma de bala. Son virus envueltos, su nucleocápside es helicoidal y su genoma es ARN monocatenario lineal de polaridad negativa. Su genoma codifica para la ribonucleoproteína RNP, la proteína de la nucleocápside N, una fosfoproteína P, una polimerasa viral L, la proteína de la matriz M y una glicoproteína de superficie G, esta última altamente inmunogénica (Flores, 2007).

La infectividad de los rhabdovirus es bastante estable en condiciones ambientales, especialmente bajo pH alcalino. Sin embargo, los viriones son lábiles y sensible a la luz solar, la radiación ultravioleta (UV), el desecamiento, temperaturas de 50°C por 15 minutos, hipoclorito de sodio, formalina, detergentes y solventes lipídicos (Flores, 2007). El virus de la Rabia se encuentra presente en todos los continentes, aunque algunos países lograron su erradicación. Los huéspedes naturales son los principales vectores de la infección, pudiendo transmitir el virus a otros individuos de su misma especie o individuos de otras especies, cuando esto ocurre son llamados huéspedes terminales ya que el ciclo termina cuando estos mueren a causa de la infección. En la naturaleza el virus de la rabia es mantenido por ciclos, en caninos domésticos se denomina ciclo urbano. La mayoría de las infecciones por el virus de la rabia ocurre por transmisión percutánea a través de la mordedura de animales infectados. La transmisión aerogena puede ocurrir en raras ocasiones, pero no tiene importancia epidemiológica para el ciclo de infección (Flores, 2007).

El período de incubación de la rabia es muy variable luego de la infección natural. Muchos factores están asociados con un período de incubación más o menos extenso, tales como el virus involucrado, el sitio de la mordedura (cuanto más cerca del sistema nervioso central, más rápido se transporta el virus), la carga viral inoculada, la susceptibilidad de las especies expuestas y la inmunidad del animal mordido. En general, el período de incubación es de 14 días a 12 semanas, aunque se han descrito períodos superiores a un año. En el huésped infectado, el virus puede replicarse en las células musculares próximas al del sitio de inoculación, antes de invadir el sistema nervioso central (SNC). Esta multiplicación es importante para la posterior invasión del sistema nervioso central, pero en ocasiones puede ocurrir el transporte directo del virus sin replicarse en el sitio de entrada. El virus puede utilizar una combinación de sistemas para alcanzar el SNC, incluido el flujo

axoplásmico retrógrado. En el SNC el virus se replica y a través de los nervios periféricos de forma centrifuga se propaga para los tejidos no neurales del organismo. Los antígenos pueden ser detectados en prácticamente todos los tejidos de los animales infectados. El virus se replica en las glándulas salivales, y la excreción por la saliva es el principal mecanismo de difusión y perpetuación viral en la naturaleza, permitiendo la inoculación por la mordedora atravesando la barrera de la piel e introduciendo el virus de la rabia en un nuevo organismo. La presentación clínica de la rabia puede ser muy variable, ya que los signos neurológicos se pueden presentar de manera diferente. Las presentaciones clásicas de la enfermedad son las formas de furiosa y/o parálitica. La presentación furiosa es la más común en caninos, se manifiesta con cambios de comportamiento tales como inquietud, agresividad, hiperexcitabilidad, fotofobia, salivación, insomnio y ocasionalmente fiebre. En la forma parálitica, el animal tiene dificultad para tragar debido a la parálisis muscular, puede haber cambios en el tono de voz del animal. Con el progreso de la enfermedad, las extremidades traseras también se pueden paralizar. El cuadro evoluciona durante cuatro a cinco días, terminando con la muerte del animal. La parálisis de la mandíbula imposibilita la deglución, lo que provoca la sialorrea típica de la forma parálitica. Se ha relatado muerte súbita en animales sin manifestación de signos clínicos (Flores, 2007; Nelson y Couto, 2010).

4.3.5 Virus de la Parainfluenza canina (CPiV)

El CPiV pertenece al orden *Mononegavirales*, familia *Paramyxoviridae*, subfamilia *Paramyxovirinae*, género *Rubulavirus*. Es un virus ARN monocatenario no segmentado de polaridad negativa envuelto. Su genoma comprende 7 genes dispuestos en orden invariante N-P-M-F-SH-HN-L. Estos codifican 8 proteínas, la nucleoproteína N, la fosfoproteína P, la proteína grande L, la proteína no glucosada de la matriz M, las glicoproteínas HN y F, la proteína transmembrana SH y la proteína accesoria V (Karron y Collins, 2007).

El CPiV es sensible a pH ácido y al calentamiento a 56° C durante treinta minutos. Los solventes lipídicos, detergentes no iónicos, formaldehído y agentes oxidantes lo inactivan. Es extremadamente lábil, aunque puede permanecer viable durante meses a temperaturas inferiores a los -50° C (Flores, 2007). El potencial de transmisión por aerosoles del virus aumenta en situaciones donde se encuentran muchos animales de múltiples orígenes hacinados. En estas condiciones, el CPiV es el agente más prevalente, se disemina rápidamente y un alto porcentaje de perros se infectan en un período corto de tiempo. El rol que juegan en la transmisión los fómites no ha sido estudiado. Se han detectado anticuerpos frente a CPiV en un amplio rango de caninos salvajes, pero la información acerca de la transmisión interespecie es limitada (Ellis, 2012).

El CPiV forma parte del síndrome comúnmente conocido como tos de la perrera. La traqueobronquitis infecciosa asociada a la infección por CPiV comienza a los 7-9 días post infección y dura por 3-5 días, los signos clínicos observados son una tos seca y áspera, fiebre durante varios días, descarga nasal mucosa, faringitis y

amigdalitis. Se realiza la palpación traqueal para buscar un reflejo tusígeno positivo. Sin embargo como este virus forma parte de un complejo, es difícil atribuir estos signos únicamente a CPiV. Aunque la infección natural es generalmente autolimitada y restringida al tracto respiratorio (principalmente el tracto respiratorio superior), se ha documentado el aislamiento de CPiV del bazo, el hígado y el riñón, aunque no se ha asociado con enfermedades o lesiones en esos órganos. Actualmente, no se sabe con qué frecuencia las formas neurológicas, gastrointestinales u otras formas no respiratorias se desarrollan en condiciones naturales, pero se cree que es poco común (Ellis, 2012).

4.3.6 *Leptospira interrogans*

Las leptospiras son bacterias pertenecientes al orden *Spirochaetales* y a la familia *Leptospiraceae*, son Gram negativas, helicoidales y aerobias obligadas. Basados en la aplicación de métodos moleculares, este género comprende 22 especies agrupadas en tres categorías: especies patógenas, intermedias y saprófitas. *L. interrogans* consideradas como las patógenas se encuentran divididas en siete especies *L. borgpetersenii*, *L. inidai*, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai* y *L. weilii*. De acuerdo con la estructura antigénica las leptospiras se clasifican en serovares (serotipos) de los cuales se reconocen más de 200 en el mundo. Dentro de los factores de virulencia de las leptospiras patógenas se encuentran endotoxinas, hemolisinas, esfingomielinasa fosfolipasa y proteínas superficiales de adherencia. En los caninos, los signos clínicos de la leptospirosis son más comúnmente atribuidos a la infección con los serovares *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Pomona* y *Bratislava*. Existe poca o ninguna inmunidad cruzada entre los serovares de *Leptospira* (Rodríguez Martínez, 2000; Greene y col., 2006; Petrakovsky y col., 2014). En Uruguay los serovares detectados en orden de jerarquía son: *Icterohaemorrhagiae*, *Tarassovi*, *Pyrogenes*, *Ballum*, *Pomona*, *Canicola* (comunicación personal Dra Suanes, DILAVE)

Leptospira son diseminadas a través de huéspedes de mantenimiento que no suelen desarrollar signos clínicos. Mantienen la bacteria principalmente en los túbulos renales proximales y la excretan por orina durante varios meses o a lo largo de la vida, esto lleva a la infección directa o indirecta de otros animales y seres humanos. Cada serovar tiene uno o más huéspedes de mantenimiento (van de Maele y col., 2008). Los huéspedes de mantenimiento más conocidos son los roedores, que actúan como el principal vector de los serovares *Icterohaemorrhagiae* y *Copenhageni*, ambos pertenecientes al serogrupo *icterohaemorrhagiae*. Los perros son los huéspedes de mantenimiento del serovar *Canicola* (André-Fontaine, 2006), pero las infecciones con este serovar rara vez se detectan ya que generalmente son asintomáticas o con signos clínicos leves (Goldstein y col., 2006). La supervivencia en el medio ambiente es variable, dependiendo de la presencia de agua, suelo, calor y humedad. El agua estancada proporciona un hábitat adecuado en el que las leptospiras pueden permanecer infecciosas durante más de seis meses. Son sensibles a la desecación, a la exposición directa a los rayos solares, a pH menores

de 5.8 o mayores de 8 y también se ven afectadas por las temperaturas extremas (Rodríguez Martínez, 2000; André-Fontaine, 2006). La prevalencia de la leptospirosis parece estar vinculada a períodos de mayor lluvia. La incidencia de la enfermedad atribuida a los serovares *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae* ha disminuido, pero las infecciones con los serovares *Grippityphosa*, *Pomona* y *Bratislava* han aumentado (van de Maele y col., 2008). *Leptospira* ingresa a un animal susceptible directamente a través del contacto con orina infectada o indirectamente por el contacto con agua, tierra o lodo contaminado. Se han descrito la transmisión venérea y placentaria, y las infecciones por heridas de mordedura. *Leptospira* puede ingresar al organismo por la piel lacerada y por mucosas intactas, como la conjuntiva. Una vez dentro se extiende rápidamente por el organismo. La leptospiraemia puede durar hasta aproximadamente 10 días después del inicio de los signos clínicos. Después del período de leptospiraemia, las leptospiras se localizan en los túbulos renales proximales y se excretan por orina. La duración y la intensidad de la excreción por orina varían de perro a perro y con el serovar infectante. Cuando el animal se infecta con el serovar *Canicola* suele excretar por orina la bacteria durante períodos largos, hasta 2 años. Los perros infectados con otros serovares suelen excretar el microorganismos por períodos mucho más cortos (van de Maele y col., 2008). Una infección por *Leptospira* no siempre produce signos clínicos manifiestos. Si se desarrollan signos clínicos su gravedad es variable, dependiendo la edad, la reacción inmune del huésped y factores ambientales. En caninos se han descrito manifestaciones hiperagudas, agudas y subagudas/crónicas (Langston y Heuter, 2003). El período de incubación es de aproximadamente 5 a 15 días (Greene y col., 2006). En la fase hiperaguda, la leptospiraemia lleva a la muerte súbita. La manifestación aguda se caracteriza por pirexia, escalofríos, debilidad muscular, vómitos, deshidratación, shock, y taquipnea. La insuficiencia hepática y renal no tienen tiempo para desarrollarse (Langston y Heuter 2003). La manifestación subaguda es la más frecuente. Sus signos son fiebre, anorexia, vómitos, deshidratación y polidipsia (Langston y Heuter 2003). Otros signos comunes son letargo, dolor abdominal, dolores musculares y diarrea. Se pueden observar petequias y/o equimosis debido a que la coagulación está comprometida, por la afectación hepática o a la vasculitis. La colestasis intrahepática y la necrosis hepática pueden dar lugar a heces acólicas. Eventualmente se puede desarrollar una hepatitis crónica causando encefalopatía hepática, pérdida de peso e ictericia (Langston y Heuter 2003; Greene y col., 2006). Algunos animales desarrollan tos, disnea, conjuntivitis, rinitis y amigdalitis (Langston y Heuter 2003). La uveítis puede ocurrir semanas o meses después de la fase aguda de la enfermedad. La poliuria y la polidipsia pueden desarrollarse como resultado del deterioro progresivo de la función renal y/o insuficiencia hepática. Los signos de afectación del sistema nervioso central son raros, se han observado rigidez, desorientación y paresia posterior (Langston y Heuter 2003). En la práctica clínica, los perros con ictericia y / o signos de insuficiencia renal aguda deben considerarse casos sospechosos de leptospirosis hasta que se pueda establecer un diagnóstico definitivo (van de Maele y col., 2008).

4.3.7 *Bordetella bronchiseptica*

Bordetella bronchiseptica es un cocobacilo gran negativo móvil. Los factores de virulencia de *B. bronchiseptica* son: hemaglutinina filamentosa, principal factor de adhesión; aglutinógenos, proteínas de superficie que estimulan la producción de anticuerpos; fimbrias; pertactina y otros autotransportadores, proteínas de superficie, que parecen dirigir su propia exportación a la membrana externa; adenilato ciclasa, una hemolisina; una toxina dermonecrotica; lipopolisacaridos, estos son pirogénicos, mitógenos y tóxicos; sistema de secreción tipo III y una citotoxina traqueal (Mattoo y Cherry 2005).

B. bronchiseptica es uno de los principales agentes etiológicos de tos de la perrera, una enfermedad altamente contagiosa. En animales hacinados, las infecciones clínicas pueden alcanzar niveles epizoóticos. Tiene una alta morbilidad pero una baja mortalidad. Los huéspedes de *B. bronchiseptica* incluyen animales salvajes, roedores y gatos. Se demostró que este microorganismo puede replicarse en aguas a 37° C durante 3 semanas y sobrevivir en aguas de lagos hasta por 24 semanas (Greene y col., 2006).

La principal vía de infección es la vía oronasal, donde coloniza las superficies mucosas. Luego de adherirse a los cilios de la mucosa respiratoria provoca ciliostasis y destrucción de los cilios, dando como resultado la falla del mecanismo de depuración y facilita la continua colonización y persistencia de las bacterias (Greene y col., 2006).

La enfermedad puede ser leve, con sólo una tos seca y severa o presentarse con una tos paroxismal seca o mucosa, acompañada de secreción ocular y nasal. Los animales que desarrollan una forma grave de la enfermedad presentan neumonía. Se producen náuseas y vómitos provocados por la tos. La enfermedad dura de 1 a 3 semanas y las muertes por neumonía no son frecuentes (Mattoo y Cherry 2005).

4.3.8 Coronavirus Canino (CCoV)

El CCoV pertenece al orden Nidovirales, género *Coronavirus*. Los coronavirus animales se dividen en 3 grupos antigénicos, CCoV pertenece al grupo 1, a su vez se divide en CCoV tipo 1 y CCoV tipo 2 (Decaro y Buonavoglia, 2008c). Son virus con una envoltura lipídica con peplómeros que se proyectan externamente dando al virión un aspecto de corona. Su nucleocápside es helicoidal, su genoma es ARN monocatenario de sentido positivo (Flores, 2007). Su genoma codifica proteínas no estructurales incluyendo la polimerasa viral ARN dependiente de ARN y proteasas, proteínas estructurales, la proteína S que forma las proyecciones que dan nombre a la familia viral y principal blanco para la formación de anticuerpos neutralizantes, la proteína pequeña de membrana E, la proteína de membrana M, componente estructural más abundante, la proteína de la nucleocápside N, y codifica también otras proteínas no estructurales cuya función no ha sido bien definida pero se cree están relacionadas a la virulencia y al rango de huéspedes (Decaro y Buonavoglia, 2008c).

El CCoV tiene distribución mundial y los caninos de todas las edades y razas son susceptibles a la infección, aunque los cachorros son más susceptibles. La enfermedad se presenta con mayor frecuencia en las perreras, refugios y lugares donde hay interacción entre los caninos. La infección se caracteriza por una alta morbilidad y baja mortalidad. El virus es altamente contagioso y se propaga rápidamente en la población canina. La principal fuente viral son las heces de caninos infectados y fómites contaminados. El virus es excretado en las heces hasta por dos semanas post infección, algunos estudios demostraron su eliminación por períodos mayores (hasta 180 días). Los perros asintomáticos también pueden excretar el virus en las heces durante períodos prolongados. La infección por CCoV se ha demostrado en otros animales, como hienas y lobos. Los gatos domésticos también pueden infectarse, mostrando seroconversión, pero sin desarrollar signos clínicos.

La infección ocurre principalmente por vía fecoral, y generalmente es restringida al tracto digestivo. Luego de ser ingerido CCoV alcanza el intestino delgado y se replica en las células epiteliales de las vellosidades y su excreción en las heces se inicia entre uno y dos días después de la infección. El virus pasa a través del estómago, resistiendo el pH ácido y, después de la replicación en el epitelio del duodeno se disemina en la superficie intestinal hasta el íleon. No se demostró la replicación del virus en el colon. El virus se puede propagar a los ganglios linfáticos mesentéricos y ocasionalmente alcanzar el bazo y el hígado. Los signos clínicos comienzan entre uno y cuatro días después de la infección. Los caninos presentan signos típicos de la afección gastrointestinal como pérdida de apetito, vómitos, diarrea, letargia, deshidratación y raramente pueden morir. La co-infección con otros virus (CPV-2, CDV, CAV-1), bacterias o parásitos por lo general produce una forma más grave e incluso mortal de la enfermedad. Cuando no se produce el agravamiento de los signos, los animales se recuperan una semana post infección (Flores, 2007; Decaro y Buonavoglia, 2008c). En 2005, una variante altamente virulenta de CCoV tipo 2 (cepa CB / 05) se reportó en Italia, el CCoV pantrópico, causando una enfermedad sistémica con la consecuente muerte en cachorros (Buonavoglia y col., 2006). Los signos clínicos consistieron en fiebre (39,5 – 40° C), letargo, pérdida de apetito, vómitos, diarrea hemorrágica, leucopenia severa y signos neurológicos (ataxia, convulsiones), seguidos la muerte 2 días después de la aparición de los síntomas. Esta variante también se diagnosticó en Brasil (Pinto y col., 2014). En 2003, se identificó un CCoV de grupo 2 en el tracto respiratorio de perros alojados en una perrera en el Reino Unido con antecedentes de enfermedad respiratoria endémica (Erles y col., 2003). A diferencia de los coronavirus entéricos tipo I y II, Canine respiratory corona virus (CRCoV) es responsable de signos respiratorios leves y se reconoce como agente etiológico de la Tos de la perrera junto con *Bordetella bronchiseptica*, CAV-2, CPiV, Herpesvirus canino, Reovirus y virus de la influenza (Decaro y Buonavoglia, 2008c).

4.4 RESPUESTA INMUNE, PROTECCIÓN Y DURACIÓN DE LAS VACUNAS CANINAS

Las vacunas consisten en microorganismos o fracciones de los mismos que, cuando son administradas a un animal inducen una respuesta inmunológica capaz de protegerlo frente al contacto posterior con el agente inicial. La respuesta inmune inducida resulta del desarrollo de células efectoras y células de memoria. Las vacunas deben ser eficaces para inducir protección y seguras para no producir enfermedad en el huésped. La eficacia de una vacuna está relacionada con la capacidad de estimular las células presentadoras de antígeno, seguido por la liberación de las citoquinas apropiadas y la estimulación de los linfocitos T cooperadores (Th), T citotóxicos (Tc) y B, generando un número adecuado de células de memoria y efectoras específicas para el antígeno inoculado. El antígeno contenido en la vacuna debe permanecer, preferiblemente en lugares específicos del tejido linfóide, lo que permite la estimulación continua de las células del sistema inmune. Idealmente, se espera que la vacuna sea capaz de conferir protección a largo plazo frente a una nueva exposición al agente, logrando una inmunidad de larga duración. La memoria inmunológica permitirá una respuesta inmune más intensa frente a una nueva exposición al patógeno (Flores, 2006).

En términos prácticos, los objetivos de la vacunación incluyen:

- prevenir la infección
- prevenir la enfermedad clínica y sus consecuencias
- mitigar la enfermedad clínica y sus consecuencias
- proteger al feto, se inmuniza a las madres para que su respuesta inmunológica proteja e impida la infección fetal.
- proteger a los neonatos, la inmunización de la madre conferirá inmunidad pasiva a la cría
- reducir la excreción del patógeno
- erradicar al agente de la población, inmunidad poblacional.

La mayoría de las vacunas no infecciosas requieren al menos dos dosis iniciales para inmunizar, independientemente de la edad del perro. Cuando el intervalo entre las dos dosis iniciales de una vacuna no infecciosa excede las 6 semanas, se recomienda revacunar administrando dos dosis, separadas entre dos y seis semanas, para asegurar que se ha desarrollado la inmunidad protectora. La vacuna contra la rabia es la excepción ya que el antígeno de la vacuna contra la rabia es altamente inmunogénico. Se considera que una dosis única, administrada a las 12 semanas de edad, induce inmunidad protectora, aunque se han publicado estudios que demuestran un gran porcentaje de animales vacunados con niveles de anticuerpos por debajo del límite de protección (Almeida y col., 1997; López y col., 2007; Páez y col., 2007; Moreno y col., 2012). Para asegurar que los cachorros estén efectivamente inmunizados frente la mayoría de las vacunas no infecciosas, se recomienda administrar la primera dosis de vacuna en la serie inicial luego de las

12 semanas de edad (para la vacunación frente a *Leptospira* la WSAVA recomienda comenzar a las 8 semanas de edad). Después de la vacunación inicial, el inicio de la inmunidad protectora requiere más tiempo para desarrollarse con vacunas no infecciosas que con vacunas infecciosas. Para la mayoría de las vacunas no infecciosas, el tiempo mínimo desde la administración de la primera dosis en la serie inicial de vacunación hasta el desarrollo de inmunidad protectora es de 3 semanas. La respuesta inmune protectora (anticuerpos) después de la administración de una dosis única de una vacuna no infecciosa en perros adultos que han sido vacunados el año anterior se considera rápida (horas a días). Para este tipo de vacunas se recomienda la revacunación anual (Welborn y col., 2011).

Las vacunas infecciosas deben infectar las células del huésped para estimular la respuesta inmune. Estas vacunas son más eficaces porque pueden estimular los mismos tipos de inmunidad (celular, humoral, sistémica y local) que se producen por exposición natural. Sin embargo, los organismos vaccinales están atenuados y no causan enfermedad. El inicio de la inmunidad después de la administración de una dosis única de vacuna infecciosa es de aproximadamente 1-7 días en ausencia de MDA, con CDV demostrando un comienzo más temprano en 1-2 días, CPV-2 en aproximadamente 3 días y CAV- 2 en 5-7 días. La inmunidad estimulada por las vacunas "core" persiste por años. Incluso si se determina que los niveles de anticuerpos séricos están por debajo de los niveles "protectores", es probable que se mantenga la memoria inmunológica (linfocitos T y B). Por lo tanto, una dosis única de vacuna infecciosa administrada a un perro adulto se considera protectora independientemente del tiempo desde que se administró la vacuna anterior (Welborn y col., 2011).

Debemos tener en cuenta que el desafío inmunológico al que exponemos los neonatos a través de la vacunación debe tener un impacto claro en el desarrollo de su respuesta inmune. Nuestro objetivo es que esto sea en positivo, generando una sólida inmunidad protectora y células de memoria específicas para un antígeno dado (Day, 2007)

4.4.1. Virus de distemper canino

La proteína H es clave para la infección de CDV ya que el virus la utiliza para la unión a los receptores de la célula. Una respuesta inmune adecuada contra la proteína H puede prevenir la infección por CDV (Martella y col., 2008). El gen que codifica la proteína H está sometido a una mayor variación genética y antigénica que otros genes de CDV entre las diferentes cepas. Debido a la gran diversidad genética y antigénica entre las cepas vaccinales (linaje America-1) y los otros linajes de CDV, es posible que sustituciones de aminoácidos críticas en epítopes clave de la proteína H, permitan que los cachorros no vacunados escapen del limitado repertorio de anticuerpos de origen materno, aumentando el riesgo de infección por cepas CDV de campo (Martella y col., 2008).

No existe un consenso claro en la bibliografía con respecto al título de anticuerpos que se considera protector frente a una infección por CDV. Varios estudios sugieren

que un título por Seroneutralización (SN) *in vitro* de 1:20 protege a los caninos ante el desafío con CDV (Gillespie y col., 1958; Gorham, 1966; Krakowka y col., 1978; Cooper y col., 1991). Sin embargo, Olson y col. (1997) consideraron títulos de 1:16 como protectores, mientras que Mouzin y col. (2004) proponen como protectores, títulos de SN de 1:32.

En cuanto a la protección en el tiempo frente al desafío con CDV, Auby y col. (1974) encontraron que los caninos permanecían protegidos durante 30 meses. En cambio Cooper y col. (1991) describieron que la protección persistía por 12 meses. Por otro lado Abdelmagid y col. (2004) encontraron que el 80% de los animales estaban protegidos durante 56 meses. Gill y col. (2004) y Gore y col. (2005) publicaron resultados similares, donde afirmaron que los caninos estaban protegidos frente al desafío con una cepa virulenta al menos por 3 años. En su revisión Schultz y col. (2006) aseguran que los caninos se encuentran protegidos durante 5-7 años dependiendo de la cepa utilizada en las vacunas atenuadas y durante 3 años por las vacunas basadas en vectores.

Si nos referimos a estudios serológicos Piercy y col. (1961) describieron que el 75% de los animales presentaban títulos de anticuerpos frente a CDV por 3-4 años. Por otro lado en 1966 Prydie y col. describieron que el 89% de los animales mantenían títulos durante 2-6 años. Menor tiempo de persistencia describieron Auby y col. (1974), quienes sostenían que animales aislados mantenían títulos durante 30 meses. Olson y col. (1988) reportaron que el 63% de los animales presentaban títulos durante 3 años. Asimismo se describió que el 73% de un grupo de animales enviados a Islandia (país libre de CDV y con prohibición de vacunar frente a este patógeno) mantenían títulos frente a CDV por 50 meses (Olson y col., 1997). Resultados similares describieron Mouzin y col. (2004) y Larson y Schultz (2007b), en donde sostenían que los títulos persistían por más de 48 meses. Por otra parte Böhm y col. (2004) reportaron que el 71.5% de los animales tenían títulos durante 3 años. Por otra parte Schultz y col. (2006), aseguraron que los animales presentaban títulos medibles durante 9-15 años, dependiendo de la cepa utilizada en las vacunas atenuadas, y durante 3 años por las vacunas vectores. Un estudio afirma que al analizar los sueros de caninos que llegaban a un consultorio veterinario, habiendo transcurrido al menos 18 meses desde su última vacunación, los títulos persistían hasta por 9 años (Mitchell y col., 2012). En contraparte McCaw y col. (1998) advierten que los títulos comienzan a bajar luego de los 2 años de vacunados y por tanto no estarían protegidos.

Por tanto, y resumiendo las investigaciones realizadas hasta la fecha, la protección frente a un desafío con una cepa patógena de CDV persistiría por 1 a 7 años, mientras que los títulos de anticuerpos se mantendrían por 2-15 años.

4.4.2. Parvovirus canino

La cápside de CPV-2 es altamente antigénica, la respuesta predominantemente humoral generada neutraliza eficazmente el virus. El papel importante de los anticuerpos en la protección de los animales contra la infección se enfatiza por la

efectividad de la inmunidad materna, que confiere una protección eficaz frente a la infección por CPV-2. Las infecciones ocurren predominantemente en animales jóvenes después de que los anticuerpos maternos han descendido a niveles bajos, generalmente entre 2 y 4 meses de edad dependiendo del título de anticuerpos maternos y el nivel de transferencia. La inmunidad mediada por células juega claramente un papel importante en la recuperación de la enfermedad (Hoelzer y Parrish, 2010).

Hoy en día la técnica “gold standard” para titular anticuerpos frente a CPV-2 continua siendo la inhibición de la hemaglutinación (IH) (Day y col., 2015). Se aceptan que títulos iguales o superiores a 1:80 protegen a los caninos frente a una infección por CPV-2 (Carmichael y col., 1983).

Para evaluar la duración de la protección estimulada por las vacunas vivas modificadas, se han hecho estudios de desafío. Utilizando esa estrategia se ha sugerido que los animales vacunados estarían protegidos durante 3 a 7 años (Gill y col., 2004; Gore y col., 2005; Schultz y col., 2006).

Con respecto a los estudios serológicos para evaluar la protección frente a CPV-2, diversos autores han propuesto una duración de los niveles de anticuerpos protectores entre 1.5 y 9 años luego de la vacunación (Böhm y col., 2004; Mouzin y col., 2004; Schultz y col., 2006; Mitchell y col., 2012).

Por tanto la protección frente a un desafío con una cepa patógena de CPV -2 persiste por 3-7 años, los títulos se mantienen por 3-9 años.

Con respecto a CPV-2, el surgimiento de nuevas variantes es un factor importante a considerar en la respuesta que las vacunas inducen en los caninos. Varios ensayos fueron realizados estudiando la inmunidad cruzada entre las distintas variantes de CPV. Por inhibición de la hemaglutinación (IHA) y SN *in vitro* se ha demostrado que animales inoculados con la cepa CPV-2 producen títulos de anticuerpos homólogos significativamente mayores que para los virus heterólogos (CPV-2a, CPV-2b y CPV-2c). Estas diferencias fueron más evidentes con la técnica de SN *in vitro* (Pratelli y col., 2001; Cavalli y col., 2008). En cambio en animales inoculados con la cepa CPV-2c, mediante la técnica de IHA no se detectó diferencia significativa estadísticamente en los títulos de anticuerpos contra el virus homólogo y los heterólogos. No fue este el caso mediante la técnica de SN *in vitro*, con la cual sí se observaron diferencias significativas estadísticamente entre el título de anticuerpos neutralizantes contra el virus homólogo y el virus heterólogo CPV-2 (Cavalli y col., 2008). En nuestro país investigaciones previas no fueron capaces de detectar diferencias significativas entre el título de anticuerpos contra CPV-2 y CPV-2c en perros no vacunados utilizando la técnica de inhibición de la hemaglutinación (Eliopulos y col., 2010). Si consideramos que la cepa CPV-2 ha desaparecido de la naturaleza y se encuentra únicamente en las vacunas, podemos suponer que existe cierta antigenicidad cruzada entre ambas cepas.

4.4.3. Adenovirus canino

Los adenovirus CAV-1 y CAV-2 están estrechamente relacionados antigénicamente y genéticamente (75% de identidad a nivel de nucleótidos). Estos son capaces de conferir protección cruzada, por tanto las vacunas actuales son formuladas con el componente CAV-2, el cual no tiene los efectos adversos (nefritis intersicial y opacidad corneal) relacionados a CAV-1 y protege frente a la infección por ambos patógenos (Böm y col., 2004; Decaro y col., 2008b).

La técnica utilizada para evaluar los títulos protectores frente a la infección por los CAV es la SN *in vitro* y los títulos de anticuerpos considerados protectores varían entre 1:16 (Mouzin y col., 2004) y 1:30 (Cole, 1998).

En ensayos con desafío, diversos autores han sugerido que los animales estarían protegidos de la infección entre 1 y 7 años (Cooper y col., 1991; Abdelmagid y col., 2004; Gill y col., 2004; Gore y col., 2005; Schultz y col., 2006).

Si nos referimos a estudios serológicos, se ha reportado la persistencia de títulos desde menos de 1 año hasta por 9 años (Olson y col., 1988; Cooper y col., 1991; Böm y col., 2004; Mouzin y col., 2004; Schultz y col., 2006; Mitchell y col., 2012).

Por tanto la protección frente a un desafío con una cepa patógena de CAV persiste por 1-7 años, los títulos se mantienen por 1-9 años.

4.4.4. Virus de la Rabia

El desarrollo de anticuerpos neutralizantes es fundamental para prevenir la infección por este virus. El principal blanco para la producción de anticuerpos es la glicoproteína G, la única proteína de superficie expuesta y en la cual se han identificado varios epítopes a los cuales se unen los anticuerpos monoclonales. Las vacunas frente a la Rabia inducen una respuesta humoral eficaz (Hicks y col., 2012). Varios factores influyen en la respuesta inmune frente a la vacuna de la Rabia. Ensayos previos demostraron que razas pequeñas generan una mayor respuesta que razas de porte grande (Kennedy y col., 2007; Berndtsson y col., 2011). En cuanto a la edad, los animales menores a 6 meses de edad y mayores a 5 años, presentan una tasa de fallo en la inmunización más alta que los perros entre 6 meses y 5 años (Berndtsson y col., 2011). Y se ha visto que la administración de 2 dosis en lugar de una, estimula una mejor respuesta y más duradera en el tiempo (Berndtsson y col., 2011).

Los estudios serológicos para medir títulos de anticuerpos frente al virus de la Rabia solo pueden ser realizados por laboratorios de referencia reconocidos. Las técnicas de referencia según la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) son la neutralización vírica con anticuerpo fluorescente (FAVN) y prueba rápida de inhibición de foco fluorescente (RFFIT). También es aceptada la prueba ELISA indirecta para la detección cualitativa de anticuerpos contra la rabia en muestras de sueros individuales de perros y gatos después de la vacunación. El título mínimo medible de anticuerpos frente a la rabia que se considera que representa un nivel de inmunidad que correlaciona con la capacidad de proteger contra la infección es 0,5 IU/ml. Debido a la menor sensibilidad de la prueba, los resultados negativos deben confirmarse por FAVN o RFFIT (Manual de la OIE sobre animales terrestres 2004).

Varios estudios han demostrado la protección a largo plazo proporcionada por la vacunación con vacunas inactivadas frente a un desafío virulento, la misma va desde 22 meses hasta 3 años (Sikes y col., 1971; Jaeger y Barth, 1972; Ganiere y col., 1989; Cooper y col., 1991; Lakshmanan y col., 2006; Schultz y col., 2006). Por otro lado se reportó que la vacunación con vacunas MLV frente a los patógenos “core” no interfiere en la respuesta frente a la vacunación con una vacuna inactivada para la rabia cuando son administradas simultáneamente (Lakshmanan y col., 2006). En cuanto a los estudios serológicos realizados para las vacunas inactivadas, Lakshmanan y col. (2006) reportaron que los animales estudiados, según la técnica RFFIT, mantenían títulos mayores a 0.5 UI/ml por 3 años. Por otro lado Schultz y col. (2006) afirman que los títulos permanecen por 5-7 años. Asimismo Watanabe y col. (2013) describieron que el 97% de los animales vacunados al menos 2 veces mantenían títulos RFFIT superiores a 0,5 UI/ml frente a la infección por el virus de la Rabia durante 2 años. En cambio de los animales que recibieron una sola vacunación, el 77% mantenía títulos superiores a 0.5 UI/ml durante 13 meses. Por otra parte, Moreno y col. (2012) estudiaron los niveles de protección en perro inmunizados en Uruguay, y encontraron que solamente el 36% de los caninos con historia de vacunación presentaban títulos iguales o mayores a 0,5 UI/ml utilizando la técnica ELISA. Tomando en cuenta los animales que fueron vacunados hasta 6 meses antes del muestreo, demostraron que solo el 53% de estos presentaba niveles protectores. Dichos niveles disminuían conforme el tiempo desde la última vacunación aumentaba. Resultados similares se reportaron en otros países de América Latina, en Perú solo el 32% de caninos con 3 meses desde su vacunación presentaron protección utilizando la técnica de SN en ratón, en Colombia sólo el 24.5% de caninos vacunados hacía 6 meses estaban protegidos según la técnica ELISA y en Brasil utilizando la técnica RFFIT el 25% de los perros vacunados hacía un año estaban protegidos (Almeida y col., 1997; López y col., 2007; Páez y col., 2007).

4.4.5. *Leptospira interrogans*

La inmunidad frente a *Leptospira* es generalmente humoral y serovar específica dependiendo de los antígenos aglutinantes y del antígeno de lipopolisacárido (Adler, 2015). La prueba de aglutinación microscópica (MAT) es la prueba serológica estándar, el título mínimo significativo ampliamente aceptado de 1/100 (dilución final). (Manual de la OIE sobre animales terrestres 2008).

Schultz y col. (2006) describen que las vacunas frente a *Leptospira* pueden proteger durante 6-9 meses y estimular una respuesta inmune en un bajo porcentaje (50%) de los caninos vacunados. Por otro lado, Roth y col. (2010) relatan que la protección frente al desafío con *Leptospira* es de un año, ya que no se han publicado estudios que analicen la inmunidad a largo plazo.

En ese sentido, Klaasen y col. (2014), más recientemente demostraron que una vacuna tetravalente contra *Leptospira interrogans* con antígenos de los serogrupos Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa y Australis (serovar Bratislava)

controla la infección y la excreción renal de *Leptospira* por 12 meses luego de la vacunación frente al desafío intraperitoneal y conjuntival con una cepa patogénica de cada uno de los serogrupos. La vacuna fue capaz de prevenir o reducir significativamente la infección después del desafío con las cepas de los cuatro serogrupos. En el *Grippotyphosa*, el desafío no condujo a una infección renal detectable en ninguno de los caninos estudiados.

4.4.6. *Bordetella bronchiseptica* y Virus de la Parainfluenza canina

Un enfoque de inmunización heterólogo frente a *Bordetella bronchiseptica*, proporcionaría una inmunidad más duradera y eficaz. Para esto se deberían administrar paralelamente una vacuna parenteral y una vacuna de mucosas, ya que la inmunidad de mucosas únicamente es de corta duración, incompleta y no necesariamente "potenciada" por dosis múltiples (Ellis, 2015).

Existe poca información en la bibliografía acerca de la respuesta inmune de los caninos frente a CPiV. Se supone que la inmunidad local específica (respuesta de IgA) es importante en las infecciones por este patógeno. Extrapolando lo que se conoce acerca de las respuestas inmunitarias específicas frente a los virus Parainfluenza, es probable que los linfocitos citotóxicos (CD8 +) junto con IgA confieran una protección corta e incompleta contra la reinfección, mientras que los anticuerpos neutralizantes en el suero prevengan infecciones en el tracto respiratorio inferior a largo plazo. Sin embargo, existe poca información acerca de la persistencia de anticuerpos serológicos frente a CPiV (Ellis, 2012).

En un ensayo publicado por Mouzin y col. (2004), se afirma que los animales estudiados presentaban títulos superiores a 1:16 por SN frente a CPiV por un período de 48 meses, aunque no hay información en la bibliografía sobre la correlación entre los títulos serológicos y la protección frente a CPiV (Lher y col., 2008).

Por otro lado Jacobs y col. (2005) demostraron que una vacuna atenuada bivalente frente a *B. bronchiseptica* y CPiV protegía durante 13 meses frente al desafío con ambos patógenos. La protección se midió según la severidad de la sintomatología clínica y la excreción de *B. bronchiseptica* y CPiV en el ambiente con respecto a los controles no vacunados. Los autores comprobaron que un 60% de los animales presentaba títulos de anticuerpos frente a *B. bronchiseptica* y el 100% seroconvirtieron frente a CPiV. Resultados similares publicaron Lher y col. (2008). En su ensayo demostraron que tanto una vacuna atenuada monovalente frente a *B. bronchiseptica* como una vacuna atenuada trivalente frente a *B. bronchiseptica*, CPiV y CAV-2, ambas administradas por vía intranasal, protegían frente al desafío por *B. bronchiseptica* durante un año. Los animales vacunados desarrollaron tos más leve y por menos días y mostraron menor excreción del organismo desafiante. También comprobaron la persistencia de títulos serológicos frente a *B. bronchiseptica* luego de un año de la vacunación.

4.5 INTERFERENCIAS EN LA EFICACIA DE LA VACUNACIÓN EN CANINOS

La vacunación de rutina en cachorros se da en las primeras 16 semanas de vida, tiempo durante el cual hay un cambio considerable en el sistema inmunológico de estos animales. Los cachorros recién nacidos deben obtener protección inmunológica pasiva mediante la ingestión de calostro en las primeras horas de vida. El momento de la vacunación está determinado por el período de tiempo requerido para que las inmunoglobulinas adquiridas pasivamente se degraden, permitiendo así que se genere una respuesta inmune endógena por el neonato. Es esencial para el cachorro la transferencia pasiva de inmunidad a través de la ingestión de inmunoglobulinas calostrales (Igs), la cual los protegerá durante el período neonatal. Los caninos presentan una placentación endoteliocoreal en la que existe una barrera relativamente impenetrable para la transferencia *in útero* de las inmunoglobulinas maternas. Se acepta generalmente que pequeñas cantidades de IgG pueden pasar a través de esta barrera, de tal manera que el cachorro recién nacido tiene una concentración sérica de IgG que se aproxima al 5% del nivel adulto. Puede haber una variación considerable entre los cachorros de una misma camada en la eficiencia de la captación de las inmunoglobulinas calostrales, relacionado con el tamaño y la fuerza del recién nacido individual y las habilidades maternas de la perra. El calostro canino es rico en IgG e IgA y ambas inmunoglobulinas están presentes en mayor concentración que en el suero de la perra. Por el contrario, la leche contiene significativamente más IgA que IgG, y esta IgA también está presente en mayor concentración que en el suero canino. Los cachorros recién nacidos tienen una concentración sérica de IgG de 1,2 mg/ml que aumenta a 23 mg/ml 12h después de la ingestión de calostro (Day, 2007). Al mismo tiempo que la inmunidad derivada de la madre (MDA, mother derived antibodies) protege a los cachorros en el período neonatal de posibles infecciones, las concentraciones elevadas de inmunoglobulina materna inhiben el desarrollo de la respuesta inmune neonatal endógena durante el tiempo necesario para que las proteínas maternas sean degradadas. El punto en el que un cachorro se vuelve inmunocompetente (generalmente se considera que es entre las 6 y las 12 semanas de edad) está determinado por la concentración de inmunoglobulina colostrada ingerida (Day, 2007). Entonces, los anticuerpos maternos tienen un efecto protector frente a la infección en las primeras semanas de vida. Sin embargo, en un momento dado, los niveles de anticuerpos son insuficientes para proteger al cachorro frente a la enfermedad y, por el contrario, bloquean el desarrollo de una respuesta inmunitaria eficaz estimulada por las vacunas. Este período es conocido como "ventana de susceptibilidad" (Flores, 2007).

Por lo antes mencionado, los anticuerpos maternos (MDA) interfieren significativamente con la eficacia de la mayoría de las vacunas actuales administradas a los cachorros, siendo la razón más común para el fracaso de la vacunación. La mayoría de los cachorros están protegidos por los MDA en las primeras semanas de vida, los cuales generalmente a las 8-12 semanas habrán

disminuido hasta un nivel donde es posible producir una inmunización activa. Por lo tanto, los cachorros con pocos MDA serán vulnerables (y capaces de responder a la vacunación) a una edad más temprana, mientras que los que posean títulos altos de MDA serán incapaces de responder a la vacunación hasta las 12 semanas de edad. Entonces, si la última dosis es administrada a las 16 semanas de vida o más, los MDA deberían haber disminuido a un nivel bajo y la inmunización activa debería ser posible en la mayoría de los cachorros. La administración de una vacuna infecciosa por vía intranasal puede inducir una respuesta inmune local protectora (inmunidad de mucosa) a las 3-4 semanas de edad, ya que los MDA no interfieren con este tipo de inmunidad. (Welborn y col., 2011; Day y col., 2015).

En general, los MDA son más efectivos en interferir con las vacunas infecciosas que las vacunas no infecciosas. El mecanismo por el cual los MDA interfieren con las vacunas no infecciosas es diferente al de las vacunas infecciosas. Mediante un mecanismo conocido como "enmascaramiento del antígeno", los MDA cubren, o "enmascaran", epítomos antigénicos del virus o bacterias vacunales que son necesarios para provocar una respuesta inmune protectora (Welborn y col., 2011). Debido a que los títulos altos de MDA específicos para los epítomos protectores se requieren generalmente para causar "enmascaramiento de antígenos", la interferencia de los MDA a la mayoría de las bacterinas es poco común después de 6-9 semanas de edad. En un esfuerzo por superar la interferencia provocada por los MDA con las vacunas no infecciosas, los fabricantes de vacunas usaron una variedad de métodos incluyendo la adición de adyuvante, y el aumento de la concentración de antígeno presente en la vacuna. En relación a la interferencia de los MDA con las vacunas infecciosas se han sugerido varios mecanismos, incluyendo la neutralización rápida del virus vaccinal por los anticuerpos maternos, la inhibición de la replicación, el enmascaramiento de antígenos y antígenos insuficiente para estimular las células B. Diferentes métodos de fabricación de vacunas han tenido éxito en el desarrollo de vacunas infecciosas que son capaces de superar los MDA en cachorros. Tales métodos incluyen el aumento de los títulos viral en la composición de las vacunas, utilización de un virus más infeccioso (que a menudo significa más virulento) o la administración intranasal donde los MDA son limitados o no están presentes (Welborn y col., 2011).

Otras de las causas que interfieren en la eficacia de la vacunación, es la edad del animal que se desea inmunizar. El envejecimiento se asocia con una disminución en la capacidad funcional del sistema inmunológico, a veces denominada inmunosenescencia. Se describen una serie de cambios estructurales en los órganos linfoides primarios y secundarios. Entre ellos la involución del timo al alcanzar la madurez sexual y cambios morfológicos en los tejidos linfoides, acompañados de cambios en la distribución de las subpoblaciones de linfocitos en sangre periférica, observándose un aumento en el porcentaje de linfocitos T CD8 + y ninguna diferencia o una disminución en el porcentaje de linfocitos T CD4 +, lo que resulta en una disminución significativa en la relación CD4:CD8 (HogenEsch y Thompson, 2010). Se describe una disminución de linfocitos T vírgenes y un aumento de linfocitos T CD4 + y CD8 + de memoria en animales viejos (HogenEsch

y Thompson, 2010). Mediante mecanismos homeostáticos, el organismo mantiene el número de linfocitos T en sangre periférica dentro de límites normales, debido a la disminución de los linfocitos T vírgenes, induce la proliferación y prolonga la supervivencia de los linfocitos T residentes (Aspinall, 2000). La consecuencia de esta proliferación es que el envejecimiento de un individuo estaría asociado con la acumulación de células de memoria cerca de su límite de replicación, siendo incapaces de multiplicarse lo suficiente para producir una población clon lo suficientemente grande para activar de forma eficiente las células efectoras del sistema inmune (Aspinall, 2000). Por tanto los estudios hasta la fecha sugieren que la respuesta primaria a las vacunas puede verse comprometida en perros viejos, pero las respuestas de memoria permanecen intactas (HogenEsch y Thompson, 2010).

Por otro lado, y vinculado a la intervención terapéutica concomitante con la vacunación, estudios realizados en caninos sugieren que el tratamiento a corto plazo con glucocorticoides, incluso a altas dosis (2,5 mg / kg) antes o en el momento de la vacunación, no tiene un efecto supresor significativo sobre la producción de anticuerpos. Sin embargo, es razonable revacunar 2 o más semanas después de que una terapia a largo plazo haya terminado, especialmente cuando el tratamiento ocurrió durante la administración de la serie inicial de vacunas consideradas “core” (Welborn y col., 2011). Un ensayo realizado en nuestro país, evaluó el efecto de la administración de corticoides de larga acción (triamcinolona acetónico a razón de 0.22mg/kg) una semana previa a la vacunación frente a la rabia en perros. Encontraron que los animales superaron el nivel mínimo de protección a los 60 post vacunación, pero a los 120 días los títulos disminuyeron y ninguno de los animales estudiados presentaban títulos mayores a 0.5UI/ml, recomendando una revacunación antes de los 120 días si ese animal fue tratado con el corticoides estudiado (Puentes y col., 2016).

Por otro lado, y como causa también de la interferencia con la correcta respuesta a la vacunación, la inmunodeficiencia secundaria a la parasitosis influyen negativamente la respuesta inmune específica y no específica de los animales (Mojžišova y col., 2004; 2007), interfiriendo con la respuesta eficaz a los patógenos de la vacunación en una coinfección (Haben y col., 2014). Mojžišova y col. (2004; 2007) demostraron la inmunosupresión causada por diferentes parásitos en la respuesta inmune frente a la vacunación. Los parámetros descritos fueron: disminución de la concentración total de inmunoglobulinas, disminución en el recuento de neutrófilos, y una marcada alteración de la capacidad fagocítica. También describen una semana de retraso en la detección de anticuerpos frente a una vacuna contra CPV-2 en los perros infestados en comparación con los animales sanos (Mojžišova y col., 2004). Esto se debe a que el sistema inmune presenta una inmunomodulación relacionado con la respuesta de linfocitos CD4 frente a los diferentes patógenos. Los diversos grupos de células T CD4 tienen cada una funciones muy diferentes. Los linfocitos Th1 son cruciales para la inmunidad mediada por células debido a fagocitos y ayudan en la producción de anticuerpos. Este tipo de respuesta es inducida por virus, bacterias y protozoarios. Los linfocitos

Th2 se relacionan más que nada con una respuesta de anticuerpos IgA, IgG e IgE, con la consecuente activación de mastocitos por la IgE. Esta activación promueve la inmunidad de barrera al incrementar la cantidad de moco en superficies epiteliales. Este tipo de respuesta es inducida por helmintos y otros parásitos extracelulares. Las condiciones creadas por las células presentadoras de antígeno durante el contacto inicial con el antígeno, determinan las cantidades relativas de los diferentes tipos de células T que se producen. La presencia de IL-12 e IFN- γ inducen el desarrollo hacia células Th1, además IFN- γ inhibe la proliferación de células Th2. La ausencia de IL-12 e IFN- γ y la presencia de IL-4 inducen la respuesta hacia el desarrollo de una respuesta Th2. Estas células secretan IL-10 que inhibe la producción de IL-12, por tanto inhibiendo el desarrollo de células Th1. Si un grupo de células T CD4 se activa primero, o de preferencia en una respuesta inmune, puede suprimir así el desarrollo del otro subgrupo. El efecto general es que ciertas respuestas, al final están dominadas por una respuesta de Th1 o una de Th2, y una vez que un subgrupo se hace dominante a menudo es difícil desviar la respuesta hacia el otro subgrupo (Murphy y col., 2008). Entonces un animal con una parasitosis activa tendría una respuesta predominantemente Th2. Esta respuesta inhibiría el desarrollo de una respuesta Th1, esencial para el desarrollo de una inmunidad eficiente frente a las infecciones víricas (principales patógenos presentes en la vacunación canina).

Se ha demostrado que ciertas deficiencias severas de vitaminas y oligoelementos (por ejemplo Vitamina E / Se) pueden interferir con el desarrollo de una respuesta inmune protectora a ciertas vacunas, especialmente en cachorros. Las deficiencias nutricionales conocidas o sospechadas deben ser corregidas por una suplementación nutricional apropiada, y el perro debe ser revacunado para asegurar que haya inmunidad protectora adecuada (Welborn y col., 2011).

Desde otro punto de vista, es probable que la función inmune esté determinada genéticamente y hay evidencia de efectos de raza en caninos, en los cuales la función inmune este probablemente relacionada con la herencia de haplotipos particulares de genes del complejo de histocompatibilidad mayor (MHC). Algunas razas específicas tienen una función inmune determinada genéticamente y estudios recientes confirman los patrones de respuesta serológica específicos de dichas razas a la vacunación (Day, 2007). Un pequeño porcentaje de perros son genéticamente incapaces de desarrollar una respuesta inmune frente a las vacunas. Se estima que 1/1.000 no responde frente a la vacunación contra CPV-2, 1/5.000 no responde frente a CDV, y 1/100.000 no responde frente a CAV (Day y col., 2015). La falta de respuesta inmunológica a la vacunación está determinada por factores genéticos. Entonces si un animal no desarrolla una respuesta inmune después de repetidas revacunaciones es posible que su sistema inmune intrínsecamente no reconozca a los antígenos vacunales, por lo tanto debe considerarse que genéticamente es incapaz de responder. Se ha descrito una alta susceptibilidad a la infección por CPV-2 las razas dobermanns y rottweilers. Los rottweilers también tienen una mayor proporción de animales que no logran el título

de anticuerpos antirrábicos requeridos para el traslado internacional de mascotas (Welborn y col., 2011; Day y col., 2015).

Por otro lado, existe una relación general entre el tamaño del animal y el nivel de respuesta de anticuerpos. Los perros de razas pequeñas generan mayores niveles de anticuerpos que las razas más grandes. Estudios realizados describen que además de la magnitud de la respuesta inmediatamente después de la vacunación, la duración de la inmunidad también varía entre las razas. Teniendo en cuenta que si el sistema inmune de un animal encuentra suficiente antígeno para montar una respuesta, mayores dosis antigénicas no serían un factor importante en el aumento de la producción de anticuerpos. Una explicación podría ser que los perros más grandes son más propensos a tener grasa subcutánea más profunda en sitios populares para la vacunación, ya la deposición y el secuestro del antígeno en la grasa reducen el nivel de respuesta inmune (Kennedy y col., 2007; Berndtsson y col., 2011).

Si tenemos en cuenta a la vacuna en sí misma, otra posible falla es la poca inmunogenicidad de esta. La inmunogenicidad deficiente puede deberse a factores desde la etapa de diseño y fabricación de la vacuna hasta la administración al animal. Se recomienda que las vacunas infecciosas, después de la reconstitución, se administren en 1 hora. Una vez rehidratadas, las vacunas infecciosas son altamente susceptibles a la inactivación química, razón por lo cual no se recomienda limpiar la piel con alcohol antes de la inoculación (Welborn y col., 2011; Day y col., 2015).

4.6 REACCIONES ADVERSAS A LAS VACUNAS

La amplia vacunación de los animales de compañía frente a las enfermedades infecciosas más frecuentes ha disminuido notablemente la morbilidad y mortalidad de las mismas. Esta reducción en las enfermedades también ha disminuido la conciencia pública sobre el riesgo de las enfermedades infecciosas y, paradójicamente, cambió el enfoque del público hacia la seguridad de las vacunas. La estimulación inmunológica necesaria para proporcionar la protección estimulada por las vacunas a veces produce efectos secundarios no deseados, disminuyendo la confianza pública y el cumplimiento de las recomendaciones de vacunación (Moore y HogenEsch, 2010). Por lo tanto los beneficios de la vacunación están acompañados de ciertos riesgos. Estos dependen de la edad, raza, estado inmunitario y estado de salud del animal. Los riesgos de la vacunación son las potenciales reacciones adversas que pueden ocurrir luego de la administración de la vacuna (Meyer, 2001). Las reacciones adversas se definen como cualquier efecto secundario o consecuencia no deseada (incluida la falta de respuesta) asociadas con la administración de una vacuna, pudiéndose asociar o no estos eventos directamente a la vacunación (Day y col., 2015). Al ser productos biológicos las reacciones adversas pueden instalarse rápidamente y persistir durante varias horas a días, generalmente son autolimitantes, pero ocasionalmente pueden pasar a ser patologías severas (Welborn y col., 2011). Es importante destacar que las

reacciones adversas a la vacunación son excepcionalmente raras (Moore y HogenEsch, 2010).

Las reacciones adversas a las vacunas pueden ser divididas en reacciones sistémicas y reacciones locales.

4.6.1. Reacciones sistémicas a la vacunación.

4.6.1.1. Reacciones sistémicas no específicas

Debido a que las vacunas están diseñadas para estimular al sistema inmune este tipo de reacciones son consideradas una “toxicidad normal” a la vacunación (Meyer, 2001). Unas horas luego de la vacunación el animal puede manifestar síntomas de anorexia, letargia, fiebre y dolor, estos pueden persistir hasta por 24-36hrs. Se ha planteado la hipótesis que las causas de estos malestares pueden ser la toxicidad del adyuvante, la replicación del patógeno en las vacunas MLV, la exposición a endotoxinas, o la respuesta del propio sistema inmune (Martinod, 1997; Povey y Carman, 1997). Generalmente estas reacciones son leves, pero en algunos casos los animales necesitan de terapia de apoyo (Meyer, 2001).

4.6.1.2. Reacciones de Hipersensibilidad tipo 1

Las reacciones de Hipersensibilidad tipo 1 están mediadas por la inmunoglobulina E, este tipo de reacciones como anafilaxis y angioedema son las que se han documentado más frecuentemente (Day, 2006).

Las reacciones de anafilaxis agudas reportadas incluyen en primer lugar síntomas dermatológicos (la más común es urticaria que involucra la cara y las orejas), síntomas gastrointestinales (se observan vómitos con o sin diarrea), y por último síntomas respiratorios (distress respiratorio) (Meyer, 2001). Cabe destacar que algunas de estas reacciones se han observado luego de la primer dosis de vacunación, por lo que se ha sugerido que la sensibilización necesaria para disparar esta respuesta inmune está dada por la transferencia de anticuerpos maternos (Day, 2006).

Varios experimentos han demostrado que perros vacunados presentan anticuerpos IgG e IgE ante una amplia gama de proteínas bovinas presentes en las vacunas como residuos del suero fetal bovino usado en los cultivos celulares en la producción de vacunas. Se ha sugerido que esta respuesta de IgE puede actuar como factor de riesgo para el posterior desarrollo de atopia o hipersensibilidad alimentaria (Day, 2006).

4.6.1.3. Reacciones de hipersensibilidad tipo 2

Estas reacciones de hipersensibilidad involucran la destrucción mediada por anticuerpos de un cierto tipo de células. Se ha relacionado la vacunación a varios desordenes inmunes, como la Anemia hemolítica inmuno mediada, Trombocitopenia

inmuno mediada, polineuritis y poliartritis. Disturbios en la regulación del sistema inmune debido a la vacunación, una activación inespecífica del sistema inmune debido a los adyuvantes o a “superantígenos” derivados de los microorganismos, reacciones cruzadas debido a proteínas tisulares presentes en las vacunas o a un mimetismo molecular entre los microorganismos vaccinales y los autoantígenos, son algunas de las hipótesis que se han planteado acerca del mecanismo que dispara estos desordenes del sistema inmune (Day, 2006). Se cree que la trombocitopenia hallada en algunos estudios luego de la vacunación con vacunas vivas modificadas se debe a la fagocitosis de las plaquetas unidas a antígenos previa opsonización por anticuerpos. De esta misma forma, si la vacuna contiene antígenos de eritrocitos (antígenos celulares normales), se pueden producir anticuerpos anti-eritrocitos desencadenando una anemia hemolítica inmuno mediada (Meyer, 2001). Scott-Moncrieff y col. (2002) observaron que perros vacunados desarrollaron autoanticuerpos anti-tiroglobulina junto a los anticuerpos anti-tiroglobulina bovina, aunque estos no hallaron relación con un hipotiroidismo clínico.

4.6.1.4. Reacciones de hipersensibilidad tipo 3

En estas reacciones de hipersensibilidad se observan patologías debido a la formación y depósito de complejos antígeno-anticuerpo. Mediante estudios inmunohistoquímicos, Wilcock y Yager (1986) y Vitale y col. (1999) demostraron la vasculopatía cutánea luego de la vacunación con el virus de la rabia, encontrando depósitos de virus de la rabia y complemento a nivel vascular. Como consecuencia de la vacunación con vacunas vivas modificadas de CAV-1 puede ocurrir edema corneal, asociado con el depósito de complejos inmunes en la cornea, se le conoce como “ojo azul”. Desde que se comenzó a usar utilizar CAV-2 en la fabricación de las vacunas vivas modificadas, el cual no está asociado al desarrollo de “ojo azul”, esta reacción no se ha observado más a nivel de campo (Meyer, 2001).

4.6.1.5. Inmunosupresión

Una inmunosupresión de relevancia clínica provocada por la vacunación, no ha sido claramente establecida (Meyer, 2001). Las vacunas polivalentes suprimen significativamente el recuento absoluto de linfocitos y la respuesta de estos a los mitógenos. Esta inmunosupresión de aproximadamente una semana de duración provocada por las vacunas polivalentes está dada la interacción del CDV y CAV-1/2, ya que los componentes individuales de las vacunas por si solos no producen un efecto significativo en la respuesta de los linfocitos (Phillips y col., 1989). En cambio Strassera y col. (2003) basados en sus observaciones sugirieron que en lugar de una inmunosupresión, las vacunas polivalentes provocan un cambio transitorio en el equilibrio entre inmunidad mediada por células y la humoral (Th1/Th2). Describieron una disminución en la respuesta proliferativa de los linfocitos a los mitógenos, disminución de la función de los neutrófilos en sangre periférica y la disminución de la concentración sérica de neopterina (refleja la intensidad de las reacciones

inmunitarias Th1), todos indicadores de la respuesta inmune celular. Por otro lado la concentración en plasma de IgG aumentó y la actividad sérica del sistema del complemento casi se duplicó. Otra teoría expresa que el bajo conteo de linfocitos y la disminución en la blastogénesis de los linfocitos, en lugar de reflejar una verdadera inmunosupresión, refleja un cambio en el desplazamiento de los linfocitos entre la sangre y los ganglios linfáticos (Meyer, 2001).

4.6.1.6. Virulencia residual en las vacunas

La virulencia residual de las vacunas vivas modificadas puede causar reacciones adversas en los animales vacunados (Meyer, 2001). Si se vacuna una perra preñada con una vacuna viva modificada frente a CPV-2, se puede provocar una miocarditis no supurativa en los cachorros (Povey y Carmen, 1997). Se ha reportado una encefalitis postvaccinal, al vacunar perros inmunocomprometidos con vacunas vivas modificadas frente a CDV (Roth, 1999). Los microorganismos atenuados que se consideran seguros para ser usados en animales sanos adultos, pueden causar una enfermedad severa cuando neonatos son expuestos a ellos, ya sea por vacunación o por los microorganismos excretados por animales recientemente vacunados. Asimismo, si se vacuna especies diferentes de las cuales fueron diseñadas esas vacunas, puede resultar en enfermedad (Meyer, 2001).

Cabe destacar que la reversión a la virulencia de los patógenos atenuados presentes en las vacunas vivas modificadas utilizadas en la actualidad, son extremadamente raros o inexistentes (Welborn y col., 2011).

4.6.2. Reacciones locales a la vacunación.

4.6.2.1. Dolor

Un dolor inmediato a la vacunación puede ocurrir debido a la osmolaridad o pH de la vacuna, la administración de la vacuna cerca de un nervio o la temperatura de la vacuna al momento de administrarla (Povey y Carmen, 1997). El dolor localizado en el sitio de inoculación se relaciona a la respuesta inflamatoria local del cuerpo (Meyer, 2001).

4.6.2.2. Inflamación, nódulos y masas

La inflamación producida en el sitio de vacunación se relaciona al acumulo de líquido intersticial y células inflamatorias, aunque una reacción local es el resultado esperado de la inmuoestimulación en el sitio de administración y esto no es considerado una reacción adversa por algunos autores (Meyer, 2001).

Usualmente luego de la vacunación se producen nódulos o masas palpables en el sitio administración, lo cual se puede relacionar con una hipersensibilidad local o reacciones inflamatorias generales. Estas pueden ser desencadenadas por los antígenos presentes en las vacunas, el diluyente, el adyuvante, contaminación o

endotoxinas bacterianas. Los granulomas que se forman en el sitio de inyección frecuentemente se asocian con el adyuvante presente en la vacuna, principalmente los oleosos (Povey y Carmen, 1997). Se ha descrito paniculitis granulomatosa necrotizante asociada a la vacunación frente a la rabia tanto en perros como en gatos (Meyer, 2001).

4.6.2.3. Alopecias

Se han reportado alopecias localizadas luego de la administración de vacunas. Se cree que es una consecuencia de la vasculitis provocada por el depósito de complejos antígeno-anticuerpo, esta reacción se observó principalmente luego de la administración de vacunas inactivadas frente a la Rabia, pero también se reportó debido a la vacunación frente a CDV con vacunas MLV (Meyer, 2001).

4.6.2.4. Abscesos

Los abscesos en el sitio de inoculación de la vacuna pueden darse por la vehiculización de bacterias u hongos a través de la aguja al momento de la vacunación o por la contaminación de la vacuna administrada con dichos microorganismos (Povey y Carmen, 1997).

4.7 PLANES DE VACUNACION INTERNACIONAL Y NACIONAL

En su guía para la vacunación de los caninos, *The World Small Animal Veterinary Association* recomienda comenzar el plan de vacunación contra los patógenos “core” a las 6-8 semanas de edad, revacunar cada 2-4 semanas hasta las 16 semanas de edad. Luego el booster se debe realizar a los 6 meses o al año de edad. De esta forma se asegura que el cachorro esté libre de anticuerpos maternos al momento de dar mínimo una dosis de vacuna. La vacunación en los caninos adultos debe realizarse con una sola dosis y luego vacunaciones trianuales. El virus de la Rabia se considera “core” en zonas endémicas. En estas circunstancias, se debe vacunar a los cachorros a las 12 semanas de edad, y en zonas consideradas de alto riesgo se debe administrar una segunda dosis a las 2-4 semanas. Se debe administrar un booster al año de edad. Para vacunar caninos adultos una dosis es suficiente. En los caninos adultos el booster debe realizarse según la recomendación del fabricante basado en su DOI (duration of immunity), pero en algunas áreas esto está determinado por legislaciones locales (Day y col., 2015).

Para el virus de la Parainfluenza canina (CPiV), se sugiere administrar la vacuna intranasal preferentemente. En cachorros se recomienda el mismo plan que el recomendado para las vacunas “core”. En cambio, en los caninos adultos una dosis es suficiente, pero se debe administrar un booster anual (Day y col., 2015).

Para proteger a los caninos frente a *Bordetella bronchiseptica* se han diseñado vacunas vivas atenuadas de administración intranasal. Esta se debe administrar una sola dosis tanto a adultos como a los cachorros a las 3 semanas de vida y luego

booster anuales. La presentación parenteral, contiene al patógeno inactivado y se recomienda 2 dosis separadas por 2-4 semanas tanto en adultos como en cachorros, a partir de las 6-8 semanas de edad. Se debe administrar un booster anual.

Para la vacunación frente a *Leptospira interrogans* serogrupos canicola e icterohaemorrhagiae, se recomienda en cachorros una primera dosis a las 8 semanas de edad y luego revacunar a las 2-4 semanas, y en adultos se deben administrar 2 dosis separadas por 2-4 semanas. Se debe revacunar anualmente (Day y col., 2015).

La vacunación frente a Coronavirus Canino (CCoV) no es recomendada ya que la infección por este virus es generalmente subclínica. La prevalencia o enfermedad confirmada a causa de CCoV no justifica el uso de las vacunas disponibles actualmente, además de que no existe evidencia de que estas protejan frente a cepas patógenas de CCoV (Day y col., 2015) (Tabla 1).

En nuestro país se utilizan diferentes planes de vacunación, dado que no hay un plan recomendado por las organizaciones de veterinaria locales. Los planes utilizados comienzan algunos a los 30 días, empezando únicamente contra CPV-2 y CCoV (inactivado), otros comienzan a los 45 días vacunando frente a los patógenos considerados “core”, CCoV y CPiV. Luego se dan de 3 a 4 dosis con un intervalo de 3-4 semanas entre ellas. Generalmente en las 2 últimas dosis se agrega la vacunación frente a *Leptospira interrogans* y en la última dosis se agrega el virus de la Rabia. Algunas clínicas veterinarias agregan al plan, la vacunación intranasal frente a *Bordetella bronchiseptica*. Se realiza la administración anual de las vacunas “core”, CPiV, CCoV, *Leptospira interrogans* y virus de la Rabia canina.

El consenso general en cuanto a la primovacunación de animales adultos es la administración de 2 dosis de vacunas frente a los patógenos “core”, CCoV, CPiV, *Leptospira interrogans* y virus de la Rabia canina separadas entre sí por 3 semanas. La vacunación intranasal frente a *Bordetella bronchiseptica* no es ampliamente utilizada. En nuestro país se encuentra una presentación con este patógeno atenuado junto a CPiV, también atenuado. Se administra una dosis al comienzo de la temporada fría con revacunación a las 3 semanas, luego revacunación anual (Tabla 2).

Tabla 1: Recomendaciones internacionales para las vacunas caninas según WSAVA

VACUNA	INICIO VACUNACIÓN CACHORROS	INICIO VACUNACIÓN ADULTOS	REVACUNACIÓN	CLASIFICACIÓN
•CPV-2 MLV parenteral	A las 6-8 semanas, luego cada 2-4 semanas hasta las 16 o más semanas de edad	Una sola dosis induce protección	Booster a los 6 meses o al año de edad luego del pain inicial de cachorros. Luego vacunación trianual	"core"
• CDV MLV parenteral • vacuna recombinante CDV parenteral	•CPV-2 MLV parenteral	Una sola dosis induce protección	Booster a los 6 meses o al año de edad luego del pain inicial de cachorros. Luego vacunación trianual	"core"
• CAV MLV parenteral	A las 6-8 semanas, luego cada 2-4 semanas hasta las 16 o más semanas de edad	Una sola dosis induce protección	Booster a los 6 meses o al año de edad luego del pain inicial de cachorros. Luego vacunación trianual	"core"
• Rabia inactivada parenteral	Una dosis a las 12 semanas de edad	Una sola dosis	Según legislación local o indicación del fabricante	"core" en zonas endémicas
• CPIV MLV parenteral	A las 6-8 semanas, luego cada 2-4 semanas hasta las 16 o más semanas de edad	Una sola dosis induce protección	Booster a los 6 meses o al año de edad luego del pain inicial de cachorros. Luego vacunación anual	"non-core" *
• <i>B. bronchiseptica</i> intranasal, bacterias vivas avirulentas	Una sola dosis a las 3 semanas de edad	Una sola dosis	Anual o más frecuente según riesgo	"non-core"
• <i>B. bronchiseptica</i> + CPIV intranasal	Una sola dosis a las 3 semanas de edad	Una sola dosis	Anual o más frecuente según riesgo	"non-core"
• <i>L. interrogans</i> inactivada parenteral	Una dosis a las 8 o más semanas, luego revacunar a las 2-4 semanas	2 dosis separadas entre sí por 2-4 semanas	Anual o más frecuente según riesgo	"non-core"
• CCV inactivada parenteral				no recomendada

* se recomienda la vacunación intranasal

Tabla 2: esquema general de los planes de vacunación en caninos utilizados en Uruguay

EDAD DEL CACHORRO	VACUNAS ADMINISTRADAS	OBSERVACIONES
4 semanas	CPV-2 MLV parenteral + CCV inactivado parenteral	Únicamente en condiciones especiales de riesgo (ej. huérfanos)
6 -8 semanas	CPV-2 MLV parenteral + CDV MLV parenteral + CAV parenteral + CPIVparenteral +CCV inactivado parenteral	
3 semanas después (9-11 semanas)	se repite vacuna administrada a las 6-8 semanas	
3 semanas después (12-14 semanas)	se repite vacuna administrada a las 6-8 semanas + <i>Leptospira interrogans</i>	
mayor a 16 semanas	se repite vacuna administrada a las 12-4 semanas + Rabia	Se recomienda repetir esta vacunación anualmente.
Al comienzo de la temporada fría con revacunación a las 3 semanas	<i>Bordetella bronchiseptica</i> atenuada + CPIV atenuado	Presentación intranasal que nunca debe ser administrada por otra vía. Revacunación anual

4.8. TEST SEROLOGICOS COMERCIALES PARA MONITOREAR LA INMUNIDAD

En los últimos años se han diseñado ensayos serológicos rápidos y simples que pueden ser utilizados en la práctica diaria para detectar la presencia de anticuerpos protectores frente a CDV, CPV-2 y CAV-2 en caninos individuales. Estos test de ELISA modificados permiten conocer rápidamente el status inmunológico de un canino frente a las enfermedades “core”, al dar un resultado semicuantitativo del título de IgG del animal testeado. En el mercado también se pueden encontrar kits que miden semicuantitativamente el título de IgM frente a CDV y CPV-2 (Biogal, Galed Labs. Acs Ltd; Spectrum Labs; Woodley Equipment Company Ltd). Estos test son un complemento a las técnicas “gold standard”, siendo para CPV-2 inhibición de la hemaglutinación (IH), para CDV es la seroneutralización *in vitro* al igual que para CAV, llevadas a cabo en los laboratorios. Estos ensayos comerciales se han utilizado en refugios para monitorear la respuesta serológica de los animales, ya que estos se encuentran en alto riesgo de exposición debido al alto tránsito de animales de diferentes procedencias (Gray y col., 2012; Lister y col., 2012). Un resultado positivo a estos kits rápidos dejaría en manifiesto que la revacunación es innecesaria, en cambio un resultado negativo indicaría que el animal tiene pocos o no tiene anticuerpos protectores, siendo por lo tanto susceptible a la enfermedad y debe ser revacunado. Algunos caninos pueden dar un resultado falso-negativo, ya

que al momento de entrar en contacto con el patógeno montarían rápidamente una respuesta basado en la memoria inmune. Sin embargo estos animales no pueden ser detectados fácilmente, por tanto cualquier animal con un resultado negativo debe ser revacunado. El monitoreo serológico frente a CDV, CPV-2 y CAV-2 podría ser utilizado para determinar si un cachorro ha montado una respuesta protectora, para saber los intervalos entre vacunas en caninos adultos y para el manejo de focos de enfermedades infecciosas en los refugios (Day y col., 2015).

Para el virus de la Rabia, es otro el procedimiento ya que el monitoreo serológico debe ser realizado por laboratorios de referencia reconocidos como requisito para el traslado de los animales de compañía entre países. En algunas zonas la revacunación está regulada por la legislación local (Day y col., 2015).

4.9. VACUNAS DISPONIBLES EN PLAZA Y SU COMPOSICIÓN

En nuestro país se ofrecen vacunas de varios laboratorios. Los más importantes son: Intervet, Merial, Tecnovax, Virbac y Zoetis. Dichos laboratorios presentan sus biológicos en diferentes combinaciones para ser administradas sucesivamente en los planes de vacunación canina mencionados previamente. Para simplificar la visualización se realizaron tablas con las vacunas disponibles, sus componentes y el estado de los mismos (Tablas 3, 4, 5, 6,7). Todas las vacunas son para la aplicación parenteral, salvo una excepción de aplicación intranasal.

Tabla 3: Vacunas de Laboratorios Intervet

LABORATORIOS INTERVET								
	CPV-2 atenuado	CDV atenuado	CAV-2 atenuado	CCoV inactivado	CPiV atenuado	<i>B. bronchiseptica</i> atenuada	<i>L. Canicola</i> <i>L. Icterohaemorrhagiae</i> inactivada	virus de la Rabia inactivado
Quantum Pv	✓ 2b							
Nobivac Puppy DP	✓	✓						
Nobivac DHPPI	✓	✓	✓		✓			
Quantum DA2PPvL	✓	✓	✓		✓		✓	
Quantum DA2PPvL+Cv	✓	✓	✓	✓ coronavirus felino	✓		✓	
Nobivac Lepto							✓	
Nobivac Rabies								✓
Nobivac RL							✓	✓
Nobivac KC						✓ via intranasal		

Tabla 4: Vacunas de Laboratorios Merial

LABORATORIOS MERIAL

	CPV-2 atenuado	CDV recombinante	CAV-2 atenuado	CCoV atenuado	CPiV atenuado	<i>L. Canicola</i> <i>L. Icterohaemorrhagiae</i> inactivada	virus de la Rabia inactivado
Primodog	✓						
Recombitek C4	✓	✓	✓		✓		
Recombitek C6	✓	✓	✓		✓	✓	
Recombitek C4/CV	✓	✓	✓	✓	✓		
Recombitek C6/CV	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
Hexadog	✓	✓ atenuado	✓		✓	✓	✓

Tabla 5: Vacunas de Laboratorios Tecnovax

LABORATORIOS TECNOVAX

	CPV-2 atenuado	CDV atenuado	CAV-2 atenuado	CCoV inactivado	CPiV atenuado	<i>L. Canicola</i> <i>L. Icterohaemorrhagiae</i> inactivada	<i>L. Grippotyphosa</i> <i>L. Pomona</i> inactivada	virus de la Rabia inactivado
PROVIDEAN PRIMOTEC AT	✓							
PROVIDEAN VIRATEC PC	✓			✓				
PROVIDEAN VIRATEC 4		✓	✓		✓			
PROVIDEAN VIRATEC 5	✓	✓	✓		✓			
PROVIDEAN VIRATEC 6 CV	✓	✓	✓	✓	✓			
PROVIDEAN VIRATEC LEPTOTEC						✓		
PROVIDEAN VIRATEC BH-RAB								✓
PROVIDEAN VIRATEC 9-4L	✓	✓	✓		✓	✓	✓	
PROVIDEAN VIRATEC 10 CV 4-L	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	

Tabla 6: Vacunas de Laboratorios Virbac

LABORATORIOS VIRBAC

	CPV-2 atenuado	CDV atenuado	CAV-2 atenuado	CPiV atenuado	<i>L. Canicola</i> <i>L. Icterohaemorrhagiae</i> inactivada	virus de la Rabia inactivado
Canigen MHA2Puppy	✓	✓	✓			
Canigen MHA2PPi/L	✓	✓	✓	✓	✓	
Canigen MHA2PPi/LR	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Rabigen mono						✓

Tabla 7: Vacunas de Laboratorios Zoetis

LABORATORIOS ZOETIS

	CPV-2 atenuado	CDV atenuado	CAV-2 atenuado	CCoV inactivado	CPIV atenuado	L. Canicola L. Icterohaemorrhagiae inactivada	L. Grippotyphosa L. Pomona inactivada	virus de la Rabia inactivado
Vanguad Plus CPV	✓							
Vanguad Plus CPV/CV	✓			✓				
Vanguad Plus 5	✓	✓	✓		✓			
Vanguad Plus 5/CV-L	✓	✓	✓		✓	✓		
Vanguad Plus 5 L4	✓	✓	✓		✓	✓	✓	
Vanguad Plus DA2PL		✓	✓		✓	✓		
Defensor								✓

5. CONCLUSIONES

La medicina veterinaria debido al aumento del interés en las mascotas, se ha enfocado en la prevención de las patologías, entre otras estrategias a través del uso de vacunas. Como concepto general las vacunas deben ser eficaces para inducir protección y seguras para no producir enfermedad en el animal inoculado.

Las vacunas caninas se dividen en “core” y “non-core”, según la gravedad de la enfermedad producida. Dentro de la clasificación “core” se incluyen vacunas frente a las enfermedades potencialmente mortales CPV-2, CDV, CAV-1 y Virus de la Rabia (esta en zonas donde la enfermedad es endémica). Las vacunas consideradas “non-core” protegen frente a enfermedades que generalmente producen una sintomatología más leve, se incluyen las vacunas frente a *Leptospira interrogans*, *Bordetella bronchiseptica*, y CPIV (Day y col., 2015).

En general, la protección inducida por las vacunas “core” persiste más en el tiempo que la protección inducida por las vacunas “non-core”. Comúnmente, la protección estimulada por las vacunas virales es más duradera que la de las vacunas bacterianas, la protección estimulada por las vacunas vivas modificadas es más duradera que la de las vacunas inactivadas y la protección estimulada para las vacunas que previenen la enfermedad sistémica es más duradera que las de las vacunas contra las enfermedades de mucosas (Schultz y col., 2006).

La vacunación no es un proceso inocuo, pudiendo producir reacciones adversas en el organismo. Estas reacciones son muy raras y generalmente autolimitantes, pero ocasionalmente pueden pasar a ser patologías severas (Moore y HogenEsch, 2010; Welborn y col., 2011).

WSAVA y AAHA (American Animal Hospital Association's) recomiendan que la vacunación frente a los patógenos considerados “core” sea trianual, y frente a los patógenos considerados “non-core” sea anual, o incluso más frecuente dependiendo la situación epidemiológica local y los hábitos de los caninos (Welborn y col., 2011; Day y col., 2015).

Las únicas maneras prácticas de comprobar si una vacuna estimula una inmunidad protectora es a través del desafío con un patógeno virulento o el monitoreo serológico. En las clínicas veterinarias, la única opción aceptable para informarle a los propietarios que sus mascotas han desarrollado una respuesta inmune efectiva es el monitoreo serológico (Welborn y col., 2011). En los últimos años se han desarrollado kits rápidos y simples que pueden ser utilizados en la práctica diaria para monitorear la serología frente a CPV-2, CDV y CAV-1. Su aplicación práctica podría ser para determinar la inmunidad protectora en el cachorro, informar intervalos de revacunación en perros adultos y en el manejo de brotes de enfermedades infecciosas en refugios. Las determinaciones de anticuerpos para otros componentes de la vacuna son de valor limitado o nulo debido al corto período de tiempo en que persisten estos anticuerpos (por ejemplo, *Leptospira*) o a la falta de correlación entre los anticuerpos séricos y la protección (por ejemplo, *Leptospira* y parainfluenza canina). El monitoreo serológico frente al virus de la Rabia solo puede ser realizado por laboratorios de referencia reconocidos. La desventaja principal es que el costo de estos kits es mayor al de una dosis de vacuna (Day y col., 2015).

Varios factores influyen en la respuesta que un animal establece frente a la vacunación. La edad, los animales gerontes tienen una baja respuesta a la primovacunación, pero se ha visto que la edad no afecta en gran medida la respuesta inmune estimulada frente a un patógeno con el cual su sistema inmune ya había tenido contacto (HogenEsch y Thompson, 2010). En cuanto al tamaño, se describió que caninos de razas pequeñas montan una respuesta inmune más efectiva y duradera que caninos de razas grandes frente a la vacuna antirrábica (Kennedy y col., 2007; Berndtsson y col., 2011). Ciertos animales luego de repetidas revacunaciones no montan una respuesta de anticuerpos protectora, y se les denomina "no respondedores" y es probable que este determinado por factores genéticos (Day, 2007). La parasitosis es un factor fundamental al momento de decidir administrar una vacuna. Debido a la inmunomodulación, si una respuesta de linfocitos Th predomina, la otra es inhibida. Por tanto al estar infestado la respuesta inmune que ese animal está montando frente a esta patología inhibe su capacidad de responder frente a los patógenos presentes en la vacuna (Murphy y col., 2008). Los tratamientos con corticoides de larga acción y las deficiencias severas de vitaminas y oligoelementos reducen la capacidad de ese animal para responder inmunológicamente (Welborn y col., 2011).

Es esencial para el cachorro la transferencia pasiva de inmunidad a través de la ingestión de inmunoglobulinas calostrales (Igs) para protegerlos durante el período neonatal. Pero estos anticuerpos maternos (MDA) pueden interferir con la capacidad de generar una respuesta inmune endógena por el neonato, generando el fenómeno denominado "ventana de susceptibilidad" (Day, 2007; Flores, 2007). Este fenómeno explica porque algunos cachorros se infectan y consecuentemente desarrollan sintomatología clínica aún estando vacunados. Cabe destacar que las vacunas ADN tienen la potencialidad de inducir una respuesta inmune aún en presencia de anticuerpos calostrales (Dhama y col., 2008).

Varios trabajos afirman que la protección inducida por la vacunación frente a los patógenos “core” CDV, CPV-2, CAV-1 incluido el virus de la Rabia, se mantiene al menos por 3 años (Piercy y col., 1961; Prydie y col., 1966; Sikes y col., 1971; Jaeger y Barth, 1972; Olson y col., 1988; Olson y col., 1997; Abdelmagid y col., 2004; Böhm y col., 2004; Gill y col., 2004; Mouzin y col., 2004; Gore y col., 2005; Lakshmanan y col., 2006; Schultz y col., 2006; Larson y Schultz, 2007a/b; Mitchell y col., 2012). Otros trabajos sostienen que la respuesta protectora no persiste tanto en el tiempo (Auby y col., 1974; Ganiere y col., 1989; Cooper y col., 1991; Almeida y col., 1997; McCaw y col., 1998; López y col., 2007; Páez y col., 2007; Moreno y col., 2012). La mayoría de estos trabajos se basaron en el análisis de la respuesta humoral, ya que a producción de anticuerpos es uno de los mecanismos más importantes para generar una inmunidad protectora frente a estos patógenos (Schultz y col., 2006). Cabe destacar que la presencia de un título por debajo del considerado protector, no necesariamente implica que ese animal sea susceptible a desarrollar la enfermedad en caso de infectarse, ya que probablemente al entrar en contacto con el patógeno, se estimulará una respuesta de memoria inmunológica, impidiendo el desarrollo de la consecuente enfermedad (Welborn y col., 2011; Day y col., 2015).

La Rabia es considerada una zoonosis de suma importancia. El estudio realizado en nuestro país describe un bajo porcentaje de protección en animales vacunados (36%) (Moreno y col., 2012). Debemos tener en cuenta que en este estudio se utilizó solo la prueba ELISA, y debido a la menor sensibilidad de esta, la OIE recomienda una confirmación de los resultados negativos a esta prueba por FAVN o RFFIT. También el estudio realizado por Ganiere y col. (1989) demostró que un 30 % de los animales que estaban protegidos frente al desafío de una cepa virulenta del virus de la Rabia presentaban títulos de anticuerpos menores a 0,5 UI/ml al momento del desafío, utilizando la técnica SN.

En cuanto a dos de las enfermedades con riesgo de vida más importantes que afectan a los caninos, debemos mencionar que aún existe una marcada controversia sobre la protección que las vacunas de CPV-2 confieren frente a sus variantes CPV-2a/b/c. Las vacunas fabricadas frente a CDV contienen cepas pertenecientes al linaje America-1. Se ha descrito una alta tasa de variación entre la proteína H (esencial para la infección y principal blanco de la producción de anticuerpos) de este linaje y la proteína H de los otros 5 linajes de CDV, aumentando esto el riesgo de infección en los cachorros.

La protección inducida por las vacunas “non-core” es de menor duración y magnitud comparándola con la inducida por las vacunas “core” (Day y col., 2015). Hasta el momento no hay trabajos publicados que analicen la inmunidad a largo plazo frente a *Leptospira*. Se ha descrito que la protección frente a este patógeno es de un año (Roth y col., 2010; Klaasen y col., 2014), o incluso menos tiempo (Schultz y col., 2006). Además de que las vacunas estimulan una respuesta inmune en un bajo porcentaje (50%) de los caninos vacunados (Schultz y col., 2006). La mayoría de las vacunas en plaza protegen frente a la infección frente a *L. icterohaemorrhagiae* y *L. canicola* debido a que son la causa de la mayoría de las infecciones por *Leptospira*

(van de Maele y col., 2008), pero debido al aumento en la infección por los serovares *Grippotyphosa* y *Pomona* (van de Maele y col., 2008), estos han sido incluidos en la composición de las vacunas por ciertos laboratorios.

Tanto *B. bronchiseptica* como CPiV son patógenos que generalmente afectan las vías respiratorias superiores, y por lo tanto la inmunidad frente a ambos depende de la IgA en mucosas. Es por eso que se propone que las vacunas intranasales protegen frente a la infección y enfermedad, mientras que las vacunas parenterales protegen frente a la enfermedad. Dadas las características de la respuesta inmune de mucosas un enfoque de inmunización heterólogo, usando una combinación de vacunas parenterales y vacuna de mucosa proporcionaría una inmunidad más duradera y eficaz (Ellis, 2015). Se ha descrito que vacunas intranasales protegen frente al desafío con estos patógenos y estimulan la persistencia de anticuerpos frente a ambos durante un año (Jacobs y col., 2005; Lher y col., 2008). Se supone que los anticuerpos séricos frente a CPiV previenen infecciones en el tracto respiratorio inferior a largo plazo, aunque existe poca información en la bibliografía sobre la persistencia de anticuerpos frente a CPiV y la correlación de estos con la protección frente a CPiV (Lher y col., 2008; Ellis, 2012). Existe poca información en la bibliografía acerca de la transmisión intra especies de *Bordetella bronchiseptica* (Ellis, 2015), teniendo en cuenta que es un patógeno con potencialidad zoonótica (Register y col., 2012). La vacunación frente a CCoV no es recomendada por la WSAVA, entre otros motivos porque no existe evidencia de que estas protejan frente a cepas patógenas de CCoV (Day y col., 2015). Sería necesaria la formulación de nuevas vacunas capaces de estimular una respuesta eficaz frente a las nuevas cepas altamente virulentas de CCoV, así como proteger frente a CRCoV (Canine respiratory Coronavirus).

La vacunación sistémica de los caninos ha disminuido la morbilidad y mortalidad de las enfermedades infecciosas más relevantes. Sin embargo, la prevalencia de las mismas sigue siendo alta. Como hemos descrito varios son los factores que deben ser tenidos en cuenta en el momento de vacunar, y por lo tanto es muy importante realizar una revisión general, así como una buena anamnesis del animal previo a realizar el acto médico de la vacunación.

El concepto de inmunidad poblacional es fundamental en la vacunación de pequeños animales. La vacunación individual de los animales de compañía es importante, no sólo para proteger al animal, sino que también para reducir el número de animales susceptibles en la población, y consecuentemente reducir la prevalencia de una enfermedad. La inmunidad poblacional relacionada a las vacunas “core”, es más dependiente del número de animales de la población vacunados que del número de vacunas que recibe cada individuo. Se estima que sólo el 30-50% de los animales de compañía están vacunados en los países desarrollados, y la cifra sería significativamente menor en los países en desarrollo (Day y col., 2015). Por tanto la realización de campañas de vacunación masiva sería una estrategia fundamental para reducir la incidencia de las enfermedades potencialmente mortales para los caninos, así como para la protección de la salud pública.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abdelmagid, O.; Larson, L.; Payne, L.; Tubbs, A.; Wasmoen, T.; Schultz, R. (2004). Evaluation of the Efficacy and Duration of Immunity of a Canine Combination Vaccine Against Virulent Parvovirus, Infectious Canine Hepatitis Virus, and Distemper Virus Experimental Challenges. *Veterinary Therapeutics* Vol. 5, No. 3.

Adler, B. (2015). *Leptospira* and Leptospirosis. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 387, DOI 10.1007/978-3-662-45059-8_10

Almeida, M.F.; Aguilar, E.A.; Martorelli, L.A.; Presotto, D.; Brendão, M.M.; Pereira, A.O. (1997). Resposta imune humoral de cães á vacina inativada, de cérebro de camundongos lactentes, utilizada nas campanhas anti-rábicas no Brasil. *Rev Saúde Publica* 31:502-507.

Anderson, K.; Case, A.; Woodie, K.; Waddell, W.; Reed, H. (2014). Duration of immunity in red wolves (*canis rufus*) following vaccination with a modified live parvovirus and canine distemper vaccine. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 45(3):550-554.

André-Fontaine, G. (2006). Canine leptospirosis—do we have a problem?. *Veterinary Microbiology* 117, 19-24

Appel, M.J.G.; Carmichael, L.E.; Robson, D.S. (1975). Canine adenovirus type 2-induced immunity to two canine adenoviruses in pups with maternal antibody. *Am. J. Vet. Res.* 36, 1199-1202.

Appel, M.J.G.; Scott, F.W.; Carmichael, L.E. (1979). Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Vet. Rec.* 105, 156-159.

Appel, M.J.G.; Shek, W.R.; Shesberadaran, H.; Norrby, E. (1984). Measles virus and inactivated canine distemper virus induce incomplete immunity to canine Distemper. *Arch. Virol.* 82, 73-82.

Appel, M.J. (1999). Forty years of canine vaccination". *Advances in Veterinary medicine*. Vol 41, 309-324.

Aspinall, R (2000). Longevity and the immune response. *Biogerontology* 1:273–278

Auby, J.C.; Chappuis, G.; Desmettre, P.; Bernadac, M.; D'Hubert, P.; Terre, J.; Michel, C. (1974). Vaccinations associees du chien. Duree d'immunité Carre-Rubarth. *Recueil de Medecine Veterinaire* 150, 33-36

Berndtsson, L.T.; Nyman, A.K.; Rivera, E.; Klingeborn, B. (2011). Factors associated with the success of rabies vaccination of dogs in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53:22

Bey, R.F.; Shade, F.J.; Goodnow, R.A.; Johnson, R.C. (1981). Intranasal vaccination of dogs with live avirulent *Bordetella bronchiseptica*: A correlation of serum agglutination titer and the formation of secretory IgA with protection against experimentally-induced infectious tracheobronchitis. *Am. J. Vet. Res.* 42, 1131-1132.

Böhm, M.; Thompson, H.; Weir, A.; Hasted, A M.; Maxwell, N.S.; Herrtage, M.E. (2004). Serum antibody titres to canine parvovirus, adenovirus and distemper virus in dogs in the UK which had not been vaccinated for at least three years” *Veterinary Record* 154,457-463

Bonito, R.F.; de Oliveira, N.M.; Nishioka, S. (2004). Adverse reactions associated with a Fuenzalida-Palacios rabies vaccine: a quasi-experimental study. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 37:7-9

Buonavoglia, C., Martella, V., Pratelli, A., Tempesta, M., Cavalli, A., Buonavoglia, D., Bozzo, G., Elia, G., Decaro, N., Carmichael, L. (2001). Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *J. Gen. Virol.* 82, 3021–3025.

Buonavoglia, C.; Decaro, N.; Martella, V.; Elia, G.; Campolo, M.; Desario, C.; Castagnaro, M.; Tempesta, M. (2006). Canine coronavirus highly pathogenic for dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 492–494.

Cabasso, V.J.; Cox, H.R. (1952). A distemper-like strain of virus derived from a case of canine encephalitis: Its adaptation to the chick embryo and subsequent modification. *Cornell Vet.* 42, 96-107.

Cabasso, V.J.; Stebbins, M.R.; Norton, T.W.; Cox, H.R. (1954). Propagation of infectious canine hepatitis virus in tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 85, 239-245.

Cabasso, V.J.; Stebbins, M.R.; Avampato, J.M. (1958). A bivalent live virus vaccine against canine distemper (CD) and infectious canine hepatitis (ICH). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 99, 46-51.

Carmichael, L.E.; Joubert, J.C.; Pollock, R.V.H. (1981). A modified live canine parvovirus strain with novel plaque characteristics. I. Viral attenuation and dog response”. *Cornell Vet.* 71, 408-427.

Carmichael, L.E.; Joubert, J.C.; Pollock, R.V.H. (1983). A modified live canine parvovirus vaccine. II. Immune response. *Cornell Vet.* 73, 13-29.

Cavalli, A.; Martella, V.; Desario, C.; Camero, M.; Bellacicco, A. L.; De Palo, P.; Decaro, N.; Elia, G.; Buonavoglia, C. (2008). Evaluation of the Antigenic Relationship among Canine Parvovirus Type 2 Variants. *Clinical and Vaccine Immunology.* 15: 534-539.

Chladek, D.W.; Williams, J.M.; Gerber, D.L.; Harris, L.L.; Murdok, F.M. (1981). A canine *parainfluenza-Bordetella bronchiseptica* vaccine: Part I. Immunogenicity. *Am. J. Vet. Res.* 12, 266-270.

Cole, R. (1998). Rethinking canine vaccinations. *Veterinary Forum* January, 52-57.

Cooper, P.F.; Chappuis, G.; Saint-Gerand, A.L.; Duret, C. (1991). Comparaison de l'efficacite des differents vaccins du chien, utilises sous forme monovalente ou associee, par evaluation des responses serologiques et apres epreuves virulentes 12, 22 et 26 mois apres vaccination. Bulletin Mensuel de la Societe Veterinaire Pratique de France 75, 131-152

Day, M.J. (2006). Vaccine side effects: fact and fiction. *Veterinary Microbiology* 117, 51-58.

Day, M.J. (2007). Immune System Development in the Dog and Cat. *J.Comp. Path.*, Vol.137, S10-S15

Day, M.J.; Horzinek, M.C.; Schultz, R.D.; Squires, R.A. (2015) .WSAVA Guidelines For The Vaccination Of Dogs And Cats.

Decaro, N.; Desario, C.; Elia, G.; Martella, V.; Mari, V.; Lavazza, A.; Nardi, M.; Buonavoglia, C. (2008a). Evidence for immunisation failure in vaccinated adult dogs infected with canine parvovirus type 2c" *New Microbiologica*, 31, 125-130.

Decaro, N.; Martella, V.; Buonavoglia, C. (2008b). Canine Adenoviruses and Herpesvirus. *Vet Clin Small Anim* 38 799–814.

Decaro, N.; Buonavoglia, C. (2008c). An update on canine coronaviruses: Viral evolution and pathobiology. *Veterinary Microbiology* 132 221–234.

Decaro, N.; Buonavoglia, C. (2012). Canine parvovirus—A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Veterinary Microbiology* 155. 1–12.

Dhama, K.; Mahendran, M.; Gupta, P.K.; Rai, A. (2008). DNA vaccines and their applications in Veterinary practice: current perspectives. *Vet Res Commun* 32:341–356.

Edwards, B.G.; Fulker, R.H.; Acree, W.M. (1985). Evaluating a canine coronavirus vaccine through antigen extinction and challenge studies. *Vet. Med.* 80, 28-33.

Eliopoulos, N.; Finger, P.F.; Nunes, C.F.; Castro, C.C.; Moreno, J.; Hübner, S.O.; Puentes, R. (2010). Immune response to Canine Parvovirus (CPV): Comparison of antibodies to CPV-2 and CPV-2c in unvaccinated dogs. XXI Encontro Nacional de Virología - V Encontro de Virología do Mercosul.

Ellis, J. A. (2012). A review of canine parainfluenza virus infection in dogs. *JAVMA*, Vol 240, No. 3.

Ellis, J.A. (2015). How well do vaccines for *Bordetella bronchiseptica* work in dogs? A critical review of the literature 1977-2014. *The Veterinary Journal* doi:10.1016/j.tvjl.2015.02.006.

Emery, J.B.; House, J.A.; Bittle, J.L.; Spotts, A.M. (1976). A canine parainfluenza viral vaccine: Immunogenicity and safety. *Am. J. Vet. Res.* 37, 1323-1327.

Erles, K.; Toomey, C.; Brooks, H.W.; Brownlie, J. (2003). Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease. *Virology* 310, 216–223.

Flores, E.F. (2007). *Virologia Veterinária*. Santa Maria : Ed. da UFSM, 888 p. ; 30 cm.

Ganiere, J.P.; Andre-Fontaine, G.; Blancou, J.; Artois, M.; Aubert, A. (1989). Vaccination antirabique de chien et du chat: taux d'anticorps et resistance a l'epreuve virulente deux ans apres l'injection de rappel d'un vaccin additionne d'adjuvant. *Revue de Medecine Veterinaire* 140, 281-285

Gill, M.; Srinivas, J.; Morozov, I.; Smith, J.; Anderson, C.; Glover, S.; Champ, D.; Chu, H. (2004). Three-Year Duration of Immunity for Canine Distemper, Adenovirus, and Parvovirus After Vaccination with a Multivalent Canine Vaccine. *Intern J Appl Res Vet Med* • Vol. 2, No. 4

Gillespie, H.J.; Baker, J.A.; Burgher, J.A.; Robson, D.; Gilman, B. (1958). The immune response of dogs to distemper virus. *Cornell Veterinarian* 48, 103-126

Glickman, L.T.; Appel, M.J. (1981). Intranasal vaccine trial for canine infectious tracheobronchitis (kennel cough). *Lab. Anim. Sci.* 31, 397-399.

Goldstein, R. E.; Lin, R.C., Langston, C.E.; Scrivani, P.V.; Erb, H. N.; Barr, S.C. (2006). Influence of infecting serogroup on clinical features of leptospirosis in dogs. *Journal of Veterinary Medicine* 20, 489-494

Gore, T.C.; Lakshmanan, N.; Duncan, K.L.; Coyne, M.J.; Lum, M.A.; Sterner F.J. (2005). Three-year duration of immunity in dogs following vaccination against canine adenovirus type-1, canine parvovirus, and canine distemper virus. *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine* 6: 5–14.

Gorham, J.R. (1966). Duration of vaccination immunity and the influence on subsequent prophylaxis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 149, 699-704

Gray, L.K.; Crawford, P.C.; Levy, J.K. (2012). Comparison of two assays for detection of antibodies against canine parvovirus and canine distemper virus in dogs admitted to a Florida animal shelter. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 240, 1084-1087

Green, R.G.; and Carlson, W.E. (1945). The immunization of foxes and dogs to distemper with ferret-passage virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 107, 131-142.

Greene, C.E.; Sykes, J.E.; Brown, C.A.; Hartmann, K. (2006). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3rd edn. Ed C. E. Greene. St Louis, Saunders Elsevier. pp 402-417

- Gupta, P.K.; Rai, A.; Rai, N.; Raut, A.; Chauhan, S. (2005a). Cloning of canine parvovirus VP2 gene and its use as DNA vaccine in dogs. *Current Science*, 88, 778–782
- Gupta, P.K.; Rai, A.; Rai, N.; Saini, M. (2005b). Immunogenicity of a recombinant plasmid DNA containing glycoprotein gene of rabies virus CVS. *Journal of Immunology and Immunopathology*, 7, 58–61
- Haben, I.; Hartmann W.; Breloer, M. (2014). Nematode-Induced Interference with Vaccination Efficacy Targets Follicular T Helper Cell Induction and Is Preserved after Termination of Infection. *PLoS Negl Trop Dis* 8(9): e3170.
- Haig, D. A. (1956). Canine distemper-immunization with avianised virus. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 27, 19-53.
- Hartman, E.G.; van Houten, M.; van der Donk, J.A.; Frik, J.F. (1984a). Serodiagnosis of canine leptospirosis by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 7, 33-42.
- Hartman, E.G.; van Houten, M.; van der Donk, J.A.; Frik, J.F. (1984b). Determination of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in sera of experimentally infected dogs by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 7, 43-51.
- Hicks, D.J.; Fooks, A.R.; Johnson, N. (2012). Developments in rabies vaccines. *Clinical and Experimental Immunology*, 169: 199–204
- Hoelzer, K.; Parrish, C.R. (2010). The emergence of parvovirus of carnivores. *Vet. Res.* 41:39.
- HogenEsch, H.; Thompson, S. (2010). Effect of Ageing on the Immune Response of Dogs to Vaccines. *J. Comp. Path.* Vol. 142, S74eS77
- Jacobs, A.A.C.; Theelen, R.P.H.; Jaspers, R.; Horspool, L.J.I.; Sutton, D.; Bergman, J. G.H.E.; Paul, G. (2005). Protection of dogs for 13 months against *Bordetella bronchiseptica* and canine parainfluenza virus with a modified live vaccine. *Veterinary Record* 157, 19-23.
- Jaeger, O.; Barth, R. (1972). Untersuchungei mmit inaktivierten Tollwut-Gewvebekultue-Impfbstoffen am tier. *Berlinier utod Miitchiener Tierairztliche WVoehschrift* 20, 381-400
- Jiang, W.; Baker, H.J.; Swango, L.J.; Schorr, J.; Self, M.J.; Smith, B.F., (1998). Nucleic acid immunization protects dogs against challenge with virulent canine parvovirus. *Vaccine*, 16, 601–607
- Karron, R.A.; Collins, P.L. (2007). Parainfluenza viruses. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields virology*. Vol 1. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins. 1497–1526.

- Kelser, R.A. (1930). Rabies vaccine chloroform-treated. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 77, 595-603.
- Kennedy, L.J.; Lunt, M.; Barnes, A.; McElhinney, L.; Fooks, A.R.; Baxter, D.N.; Ollier, W.E.R. (2007). Factors influencing the antibody response of dogs vaccinated against rabies. *Vaccine* 25 8500–8507
- Klaasen, H.L.B.M.; van der Veen, M.; Sutton, D.; Molkenboer M.J.C.H. (2014). A new tetravalent canine leptospirosis vaccine provides at least 12 months immunity against infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 158, 26–29
- Kontor, E.J.; Wegrzyn, R.J.; Goodnow, R.A. (1981). Canine infectious tracheobronchitis: effects of an intranasal live canine *parainfluenza--Bordetella bronchiseptica* vaccine on viral shedding and clinical tracheobronchitis (kennel cough). *Am. J. Vet. Res.* 42, 1694-1698.
- Krakowka, S.; Long, D.; Koestner, A. (1978). Influence of transplacentally acquired antibody on neonatal susceptibility to canine distemper virus in gnotobiotic dogs. *Journal of Infectious Diseases* 137, 605-608.
- Lakshmanan, N.; Gore, T.C.; Duncan, K.L.; Coyne, M.J.; Lum, M.A.; Sterner, F.J. (2006). Three-Year Rabies Duration of Immunity in Dogs Following Vaccination with a Core Combination Vaccine against Canine Distemper Virus, Canine Adenovirus Type-1, Canine Parvovirus, and Rabies Virus. *Veterinary Therapeutics* • Vol. 7, No. 3.
- Lamb, R.A.; Paterson, R.G.; Jardetzky, T.S. (2006). Paramyxovirus membrane fusion: lessons from the F and HN atomic structures. *Virology* 344:30–7.
- Langston, C.E.; Heuter, K.J. (2003). Leptospirosis. A re-emerging zoonotic disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33, 791-807
- Larson, L.J.; Schultz, R.D. (2007a). Three-Year Serologic Immunity against Canine Parvovirus Type 2 and Canine Adenovirus Type 2 in Dogs Vaccinated with a Canine Combination Vaccine. *Veterinary Therapeutics* Vol. 8, No. 4.
- Larson, L.J. and Schultz, R.D. (2007b). Three-Year Duration of Immunity in Dogs Vaccinated with a Canarypox-Vectored Recombinant Canine Distemper Virus Vaccine. *Veterinary Therapeutics* Vol. 8, No. 2.
- Lehr, C.; Jayappa, H.; Erskine, J.; Brown, A.; Sweeney, D.; Wasmoen, T. (2008). Demonstration of 1-Year Duration of Immunity for Attenuated *Bordetella Bronchiseptica* Vaccines in Dogs. *Veterinary Therapeutics* • Vol. 9, No. 4
- Litster, A.; Nichols, J.; Volpe, A. (2012). Prevalence of positive antibody test results for canine parvovirus (CPV) and canine distemper virus (CDV) and response to modified live vaccination against CPV and CDV in dogs entering animal shelters. *Veterinary Microbiology* 157, 86-90

López, R.; Díaz, A.; Condori, E. (2007). Susceptibilidad canina a rabia después de una campaña de vacunación en zonas endémicas del Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 24:13-19.

Lopez de Turiso, J.A.; Cortes, E.; Martinez, C.; Ruiz de Ybanez, R.; Simarro, I.; Vela, C.; Casall, I. (1992). Recombinant Vaccine for Canine Parvovirus in Dogs. *Journal of virology*, p. 2748-2753.

Luo, J.; Shi, H.; Tan, Y.; Niu, X.; Long, T.; Zhao, J.; Tian, Q.; Wang, Y.; Chen, H.; Guo, X. (2013). Two potential recombinant rabies vaccines expressing canine parvovirus virion protein 2 induce immunogenicity to canine parvovirus and rabies virus. *Vaccine* 34 (2016) 4392–4398

Mähl, P.; Cliquet, F.; Guiot, A.; Niin, E.; Fournials, E.; Saint-Jean, N.; Aubert, M.; Rupprecht, C.E.; Gueguen, S. (2014). Twenty year experience of the oral rabies vaccine SAG2 in wildlife: a global review. *Veterinary Research*, 45:77

Manual de la OIE sobre animales terrestres (2004). Capítulo 2.2.5

(Manual de la OIE sobre animales terrestres (2008). Capítulo 2.1.9

Martella, V.; Elia, G.; Buonavoglia, C. (2008). Canine Distemper Virus. *Vet Clin Small Anim* 38 787–797.

Martin, M.L. (1985). Canine coronavirus enteritis and a recent outbreak following modified live virus vaccination. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 7, 1013-1017.

Martinod, S. (1997). Adverse effects on vaccination. *Veterinary vaccinology*. New York. Elsevier. 574-580.

Mattoo, S.; Cherry, J.D. (2005). Molecular Pathogenesis, Epidemiology, and Clinical Manifestations of Respiratory Infections Due to *Bordetella pertussis* and Other *Bordetella* Subspecies. *Clin. Microbiol. Rev.* 18(2):326. DOI: 10.1128/CMR.18.2.326-382.2005.

McCandlish, I.A.P.; Thompson, H. (1978). Vaccination against canine bordetellosis using an aluminium hydroxide adjuvant vaccine. *Res. Vet. Sci.* 25, 51-57.

McCaw, D.; Thompson, M.; Tate, D.; Bonderer, A.; Chen, Y.J. (1998). Serum distemper vircis and parvovirus antibody titres among dogs brought to a veterinary hospital for revaccination. *Jouirinal of tite Aomericat Veteritnary Medical Association* 213, 72-75

Meyer, K. (2001). Vaccine-associated adverse events. *Veterinary clinics of North America: small animal practice*. Vol.31, No. 3.

Miranda, C.; Thompson, G. (2016). Canine parvovirus in vaccinated dogs: a field study. *Veterinary Record*, doi: 10.1136/vr.103508

Mitchell, S.A.; Zwijnenberg, R.J.; Huang, J.; Hodgeb, A.; Day, M.J. (2012). Duration of serological response to canine parvovirus-type 2, canine distemper virus, canine

adenovirus type 1 and canine parainfluenza virus in client-owned dogs in Australia. *Australian Veterinary Journal* Volume 90, No 12.

Mojžišova, J.; Hromada, R.; Paulik, S.; Ondrašovič, M.; Bajova, V. (2004). Immune response and immunomodulatory effect of levamisole in immunosuppressed dogs vaccinated against parvovirus. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 48, 93-97.

Mojžišova, J.; Süli, J.; Goldová, M.; Bajová, V.; Švrcek, S. (2007). The effect of endoparasitism on the immune response to antirabies vaccination in puppies. *Acta Parasitologica*, 52(2), 176–180; ISSN 1230-2821

Moore, G.E.; HogenEsch, H. (2010). Adverse Vaccinal Events in Dogs and Cats. *Vet Clin Small Anim* 40, 393–407

Moreno, J.; Burghi, N.; Piaggio, J; Puentes, R. (2012). Respuesta inmune de caninos vacunados contra el virus de la rabia. *Veterinaria (Montevideo)* 48 (186) 19-22

Mouzin, D.; Lorenzen, M.; Haworth, J.; King, V. (2004). Duration of serologic response to five viral antigens in dogs. *JAVMA*, Vol 224, No. 1.

Murphy, K.; Travers, P.; Walport, M. (2008). *Inmunobiología de Janeway*. 7ma. ed. Mexico. McGraw-Hill interamericana editores S.A. 887p.

Nelson, W.R.; Couto, C.G. (2010). *Medicina interna de pequeños animales*. 4ta. ed. España. Elsevier, S.L. 1489p.

Olson, P.; Klingeborn, B.; Hedhammer, A. (1988). Serum antibody response to canine parvovirus, canine adenovirus- 1, and canine distemper virus in dogs with known status of immunization: study of dogs in Sweden. *American Journal of Veterinary Research* 49, 1460-1466

Olson, P.; Finnsdottir, H.; Klingeborn, B.; Hedhammer, A. (1997). Duration of antibodies elicited by canine distemper virus vaccinations in dogs. *Veterinary Record* 141, 654-655.

Paéz, A.; Gómez, J.; Calvo, P.; Garzón, P. (2007) Niveles de inmunidad humoral conferidos con la primera dosis de la vacuna antirrábica en caninos con dueño de la ciudad de Bogotá, Colombia. *Revista de Investigación, La Salle*. 7(2): 191-197.

Panzerá, Y.; Calderón, M.G.; Sarute, N.; Guasco, S.; Cardeillac, A.; Bonilla, B.; Hernández, M.; Francia, L.; Bedó, G.; La Torre, J.; Pérez, R. (2012). Evidence of two co-circulating genetic lineages of canine distemper virus in South America. *Virus Res*. 163:401– 404. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2011.10.008>.

Panzerá, Y.; Sarute, N.; Iraola, G.; Hernández, M.; Pérez, R. (2015). Molecular phylogeography of canine distemper virus: Geographic origin and global spreading. *Mol. Phylogenet. Evol.* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2015.06.015>

Parrish, C.R., Aquadro, C.F., Strassheim, M.L., Evermann, J.F., Sgro, J.Y., Mohammed, H.O., (1991). Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. *J.Virol.* 65, 6544–6552.

Pasteur, L. (1885). Méthodes pour prévenir la rage après morsure. *C.R. Hebd. Sdances. Acad. Sci.* 101, 765-772.

Pastoret, P.P.; Brochier, B.; Aguilar-Setién, A.; Blancou, J. (1997). Part 2. Vaccination against rabies. In 'Veterinary Vaccinology. (P.-P. Pastoret, J. Blancou, P. Vannier, and C. Verschueren, eds.), Chapter 18, pp. 616-628. Elsevier, Ámsterdam.

Petrakovsky, J.; Bianchi, A.; Fisun, H.; Nájera-Aguilar, P.; Pereira, M. (2014). Animal Leptospirosis in Latin America and the Caribbean Countries: Reported Outbreaks and Literature Review (2002–2014). *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2014, 11, 10770-10789; doi:10.3390/ijerph111010770

Pinto, L.D.; Barros, I.N.; Budaszewski, R.F.; Weber, M.N.; Mata, H.; Antunes, J.R.; Boabaid, F.M.; Wouters, A.T.B.; Driemeier, D.; Brandao, P.E.; Canal, C.W. (2014). Characterization of pantropic canine coronavirus from Brazil. *The Veterinary Journal* 202. 659–662

Phillips, T.R.; Jensen, J.L.; Rubino, M.J.; Yang, W.C.; Schultz, R.D. (1989). Effects of Vaccines on the Canine Immune System. *Can J Vet Res*; 53: 154-160

Piercy, S E. (1961). An appraisal of the value and method of use of living attenuated canine distemper vaccines. *Veterinary Record* 73, 944-949

Pollock, R.V.H.; Carmichael, L.E. (1982). Dog response to inactivated canine parvovirus and feline panleukopenia vaccines. *Cornell Vet.* 72, 16-35.

Povey, R.C.; Carman, P.S. (1997). Risks of vaccination. *Veterinary vaccinology.* New York. Elsevier. 546-551.

Pratelli, A.; Cavalli, A.; Martella, V.; Tempesta, M.; Decaro, N.; Carmichael, L.E.; Buonavoglia, C. (2001). Canine Parvovirus (CPV) Vaccination: Comparison of Neutralizing Antibody Response in Pups after Inoculation with CPV2 or CPV2b Modified Live Virus Vaccine. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 8: 612-615.

Prydif, J. (1966). Persistence of antibodies following vaccination against canine distemper and the effect of revaccination. *Veterinary Record* 78, 486-488.

Puentes, R.; Calero, D.; Caresani, B.; Eliopulos, N.; Suárez, G.; Silva A.C.R.; Batista, H.B.C.R. (2016). Response to vaccination against rabies in dogs immunized during surgery or under the effect of immunomodulatory drugs. *Veterinaria (Montevideo)* Volumen 52 N° 203, 18-24.

Puntoni, V. (1923). Saggio di vaccinazione anticimurrosa preventiva eseguita per mezzo del virus specifico. *Ann. Igiene* 33, 553.

Rai, N.; Kaushik, P.; Rai, A., (2005). Development of rabies DNA vaccine using a recombinant plasmid. *Acta Virologica*, 49, 207–210

Register, K.B.; Sukumar, N.; Palavecino, E.L.; Rubin, B.K.; MEngr; Deora, R. (2012) *Bordetella bronchiseptica* in a Pediatric Cystic Fibrosis Patient: Possible Transmission from a Household Cat. *Zoonoses Public Health*. 59(4): 246–250.

Rockborn, G. (1960). A preliminary report on efforts to produce a living distemper vaccine in tissue culture. *J. Small Anim. Pract.* 1, 53.

Rodríguez Martínez, G. (2000). Estado actual de la leptospirosis. *Mvz-cordoba*; 5:(1), 61-63

Roth, J.A. (1999). Mechanistic basis for adverse vaccine reaction and vaccine failures. *Adv. Vet. Med.* 41, 681-700.

Roth, J.A.; Anna Rovid Spickler. A. (2010). Duration of immunity induced by companion animal vaccines. *Animal Health Research Reviews* 11(2); 165–190

Sarute, N.; Calderón, M.G.; Pérez, R.; La Torre, J.; Hernández, M.; Francia, L.; Panzera, Y. (2013). The fusion protein signal-peptide-coding region of canine distemper virus: A useful tool for phylogenetic reconstruction and lineage identification. *PLoS One* 8:e63595. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0063595>.

Sarute, N.; Pérez, R.; Aldaz, J.; Alfieri, A.A.; Alfieri, A.F.; Name, D.; Llanes, J.; Hernández, M.; Francia, L.; Panzera, Y. (2014). Molecular typing of canine distemper virus strains reveals the presence of a new genetic variant in South America. *Virus Genes* 48:474 – 478. <http://dx.doi.org/10.1007/s11262-014-1054-z>.

Schultz, R. (2006). Duration of immunity for canine and feline vaccines: a review. *Veterinary Microbiology* 117, 75-79.

Scott-Moncrieff, J.C.; Azcona-Olivera, J.; Glickman, N.W.; Glickman, L.T.; HogenEsch, H. (2002). Evaluation of antithyroglobulin antibodies after routine vaccination in pet and research dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 221, 515–521.

Shade, F.J.; Goodnow, R.A. (1979). Intranasal immunization of dogs against *Bordetella bronchiseptica*-induced tracheobronchitis (kennel cough) with modified live *Bordetella bronchiseptica* vaccine. *Am. J. Vet. Res.* 40, 1241-1243.

Sikes, R.K.; Peacock, G.V.; Acha, P.; Arko, R.J.; Dierks, R. (1971). Rabies vaccines: duration of immunity study in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 159, 1491-1499

Sikes, R.K. (1975). Canine and feline vaccines--past and present. *In The Natural History of Rabies* (G. M. Baer, ed.), Vol. 2, pp. 177-187. Academic Press, New York.

Sixt, N.; Cardoso, A.; Vallier, A.; Fayolle, J.; Buckland, R.; Wild, T.F. (1998). CD virus DNA vaccination induces humoral and cellular immunity and protects against a lethal intracerebral challenge. *Journal of Virology*, 72, 8472–8476

- Stephensen, C.B.; Welter, J.; Thaker, S.R.; Taylor, J.; Tartaglia, J.; Paoletti, E. (1997). Canine distemper virus (CDV) infection of ferrets as a model for testing *Morbillivirus* vaccine strategies: NYVAC- and ALVAC-based CDV recombinants protect against symptomatic infection. *J. Virol.* 71, 1506-1513.
- Strassera, A.; Maya, B.; Teltschera, A.; Wistrelaa, A.; Niedermüller, H. (2003). Immune modulation following immunization with polyvalent vaccines in dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 94, 113–121.
- Tierkel, E.S.; Kissling, R.E.; Eidson, M.; Habel, K. (1953). A brief survey and progress report of controlled comparative experiments in canine rabies immunization. *Proc. Book, 90th Annu. Meet., Am. Vet. Med. Assoc., Toronto, Canada, 1953*, pp. 443-445.
- van de Maele, I.; Claus, A.; Haesebrouck, F.; Daminet, S. (2008). Leptospirosis in dogs: a review with emphasis on clinical aspects. *Veterinary Record* 163, 409-413.
- Vitale, C.B.; Gross, T.L.; Magro, C.M. (1999). Vaccine-induced ischemic dermatopathy in the dog. *Vet. Dermatol.* 10, 131–142.
- von Messling, V.; Zimmer, G.; Herrler, G. (2001). The hemagglutinin of canine distemper virus determines tropism and cytopathogenicity. *J Virol* ;75(14):6418–27.
- Wang, X.; Feng, N.; Ge, J.; Shuai, L.; Peng, L.; Gao, Y.; Yang, S.; Xia, X.; Bu, Z. (2012). Recombinant canine distemper virus serves as bivalent live vaccine against rabies and canine distemper. *Vaccine* 30 (2012) 5067–5072.
- Watanabe, I.; Yamada, K.; Aso, A.; Suda, O.; Matsumoto, T.; Yahiro, T.; Ahmed, K.; Nishizono, A. (2013). Relationship between Virus-Neutralizing Antibody Levels and the Number of Rabies Vaccinations: a Prospective Study of Dogs in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 66, 17-21.
- Welborn, L.; DeVries, J.; Ford, R.; Franklin, R.; Hurley, K.; McClure, K.; Paul, M.; Schultz, R. (2011) AAHA Canine Vaccination Guidelines
- Wilcock, B.P.; Yager, J.A. (1986). Focal cutaneous vasculitis and alopecia at sites of rabies vaccination in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188, 1174–1177.
- Wilson, R.B.; Holladay, J.A.; Cave, J.S. (1986). A neurologic syndrome associated with use of a canine coronavirus-parvovirus vaccine in dogs. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 8, 117-123.
- Xiang, Z.Q.; Spitalnik, S.; Tran, M.; Wunner, W.H.; Cheng, J.; Ertl, H.C. (1994). Vaccination with a plasmid vector carrying the rabies virus glycoprotein gene induces protective immunity against rabies virus. *Virology*, 199, 132–140