

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA DE LA SITUACIÓN ACTUAL DE LA
PARVOVIROSIS CANINA EN LAS CLÍNICAS VETERINARIAS DE LA CIUDAD
DE MONTEVIDEO**

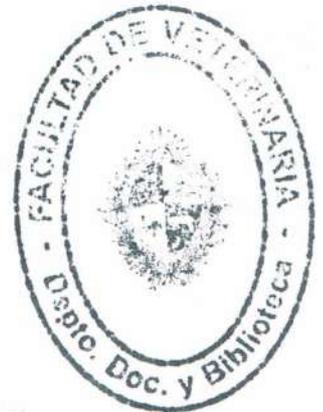
por

**GUERRERO BERGARA, Hernán
MACHIN DÍAZ, Federico**

TESIS DE GRADO presentado como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias
Orientación: Medicina

MODALIDAD: Estudio de caso

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2013**



PÁGINA DE APROBACIÓN

Presidente de mesa:

.....
Dr. Luis Delucchi

Segundo miembro (Tutor):

.....
Dr. Rodrigo Puentes

Tercer miembro:

.....
Dra. Alejandra Suanes

Cuarto miembro (Co-Tutor)

.....
Dr. José Piaggio

Fecha:

18/04/2013

Autores:

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con 9 (nueve)
Hernán Guerrero Bergara

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con 9 (nueve)
Federico Machin Díaz

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rodrigo Puentes, por todo su apoyo, paciencia y tiempo compartido con nosotros y su enorme generosidad en el momento de aportarnos sus conocimientos.

Al Dr. José Piaggio, quien con su aporte enriquecedor permitió que éste trabajo pudiera concretarse de la mejor forma.

A los profesionales responsables de las clínicas veterinarias donde se realizaron las encuestas; sin su colaboración este trabajo no hubiera sido posible, gracias por la disposición para contestar nuestras preguntas.

A todos los Docentes y Profesionales que de alguna u otra manera pusieron su grano de arena en cada examen, cada parcial y cada momento de la carrera para educarnos y formarnos como Veterinarios.

A nuestras familias, quienes con esfuerzo hicieron posible este logro, por guiarnos hacia el camino del conocimiento e inculcarlo desde siempre, por todo su apoyo incondicional.

A Malvina Prieto, esposa, amiga y apoyo fundamental en mi carrera. Gracias por la dedicación en este trabajo.

A todos nuestros amigos, compañeros de estudio, que durante estos años de esfuerzo nos acompañaron y transitamos estos caminos juntos.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE FIGURAS.....	V
1. <u>RESUMEN</u>	1
2. <u>SUMMARY</u>	2
3. <u>INTRODUCCIÓN</u>	3
4. <u>REVISION BIBLIOGRÁFICA</u>	5
4.1. DESCRIPCIÓN Y EVOLUCIÓN DEL VIRUS DE LA PARVOVIROSIS CANINA.....	5
4.2. PATOGENICIDAD Y CUADRO CLINICO DE LAS NUEVAS VARIANTES VIRALES.....	6
4.3. DIAGNÓSTICO VIRAL.....	7
4.4. RESPUESTA INMUNE Y SITUACIÓN DE LA POBLACIÓN CANINA EN URUGUAY.....	8
4.5 PROFILAXIS Y EFICACIA DE LAS VACUNAS EXISTENTES.....	9
4.6. ENCUESTAS O SISTEMAS DE VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA PARA EL CONTROL CPV.....	11
5. <u>OBJETIVOS</u>	13
5.1. OBJETIVO GENERAL.....	13
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
6. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	14
7. <u>RESULTADOS</u>	15
8. <u>DISCUSIÓN</u>	17
9. <u>CONCLUSIONES</u>	20
10. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	21
ANEXO	
Encuesta Tesis Parvovirus Canino - Facultad de Veterinaria 2012-2013.....	31

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Mapa representativo de los distintos estratos socioeconómicos del Departamento de Montevideo según el Dpto. de Sociología de la Facultad de Ciencias, Universidad de la Republica Oriental del Uruguay.....	25
Figura 2. Mapa de la ciudad de Montevideo con los barrios delimitados según el Instituto Nacional de Estadística.....	26
Figura 3. Distribución de las principales enfermedades diagnosticadas en el último año en las clínicas veterinarias encuestadas de la ciudad de Montevideo.....	27
Figura 4. Estacionalidad de Parvovirus canino en las clínicas veterinarias encuestadas de la ciudad de Montevideo.....	28
Figura 5. Principales síntomas observados por los veterinarios encuestados en los casos clínicos de CPV.....	29
Figura 6. Tiempo promedio del tratamiento realizado por los clínicos veterinarios.....	30
Figura 7. Tasa de éxito en el tratamiento de los casos clínicos de Parvovirus canino.....	30

1. RESUMEN

El Parvovirus canino (CPV) tipo 2 es uno de los principales agentes causantes de diarreas en cachorros. En los últimos años ha habido un interés trascendente por esta enfermedad debido a que se han encontrado nuevas variantes del virus (CPV-2a, CPV-2b, CPV-2c). En Uruguay esta enfermedad es una de las principales virosis en cachorros y las principales variantes circulantes son los genotipos CPV-2a y CPV-2c. Se ha observado que los síntomas clínicos producidos por la infección con las nuevas variantes virales son levemente diferentes a los producidos por el genotipo original (CPV-2). Por otro lado, la protección que confieren las vacunas comerciales contra las nuevas variantes, es discutida. Algunos autores afirman que las vacunas con CPV-2 protegen eficazmente la enfermedad producida por las nuevas variantes. Sin embargo, otros trabajos demuestran lo contrario. En este sentido, este trabajo pretende analizar la situación clínico-epidemiológica de la Parvovirus canina en clínicas veterinarias de la ciudad de Montevideo. Para esto, se realizó una encuesta personal a los profesionales encargados, focalizando la misma a los aspectos más importantes de la enfermedad y que necesitan respuestas actualmente. Los resultados obtenidos mostraron que en términos generales CPV es la principal enfermedad infecciosa diagnosticada en Montevideo representado por el 40% de las clínicas veterinarias encuestadas. Sin embargo este diagnóstico se basa principalmente en la sintomatología clínica, y si bien existen una percepción de los veterinarios que la enfermedad parece haber cambiado del punto de vista clínico, no hubo evidencia de eso en las encuestas realizadas. Otros resultados obtenidos, son reportados y discutidos en este trabajo y servirán como fuente de información actualizada sobre esta enfermedad para los veterinarios de ejercicio libre de la profesión.

Palabras claves: Parvovirus canino, epidemiología, encuestas, Uruguay.

2. SUMMARY

Canine Parvovirus (CPV) type 2 is one of the main diarrhoea - aetiological agents in puppies. In recent years there have been serious concerns about the disease since new variants of the virus have been found, CPV-2a, CPV-2b, CPV-2c. In Uruguay CPV is one of the main canine puppies viruses, and the main viral circulating genotypes are CPV-2a and CPV-2c. The clinical signs induced by the new viral variants are slightly different to those produced by the original genotype CPV-2. Moreover the protection conferred by commercial vaccines against the new variants is discussed. Some researchers claim CPV-2 vaccines protect against new variants however other studies show otherwise. The objective of this work is to study the clinical-epidemiology situation of Canine Parvovirus in Veterinary Clinics of Montevideo, Uruguay. We conducted personal interviews with Veterinarians in charge of the clinics focusing on the aspects of the disease that require to be addressed now a days. Results showed CPV represents the 40% of the diseases diagnosed in Montevideo. This diagnosis is mainly based in clinical signs. Even though Veterinarians observed that CPV signs have changed but interviews showed no evidences, on the issue. We discuss and report other outcomes, which will be an useful updated source of information on the disease for veterinarians serving as free practitioners.

Keywords: Canine Parvovirus, epidemiology, surveys, Uruguay

3. INTRODUCCIÓN

La Parvovirus canina tipo 2 (CPV-2) es una de las principales virosis en Uruguay (Puentes, 2012), siendo una de las causas más importantes de diarreas infecciosas en cachorros. Fue identificada en 1978 y tiene distribución mundial, pudiéndose identificar actualmente varias variantes del virus original CPV-2 (CPV-2a; CPV-2b; CPV-2c) (Carmichael 1994; Hoelzer y Parrish 2010).

Es una enfermedad sumamente contagiosa que afecta principalmente el tracto gastrointestinal de cachorros, perros adultos y otros cánidos salvajes (zorro, lobos y coyotes), también puede dañar el músculo cardíaco de cachorros recién nacidos y de fetos (Decaro y col., 2007).

Se transmite por contacto directo de perro a perro, por contacto físico directo con las personas, lugares contaminados o cuando los cachorros y perros adultos ingieren el virus que se encuentra en la materia fecal proveniente de perros infectados. El virus también puede contaminar las superficies en las perreras, el alimento, los recipientes para agua de beber, los collares y las correas. Además, este virus es muy resistente a las condiciones ambientales extremas como son, el calor, frío, humedad, sequedad y puede sobrevivir durante largos periodos bajo condiciones adversas (Green, 2006).

En cuanto a los síntomas observados en animales infectados con CPV, clásicamente se pueden observar cuadros de gastroenteritis, generalmente hemorrágica, anorexia, debilidad, hipertermia, deshidratación y muerte, afectando en su gran mayoría a cachorros. Actualmente se ha visto en varios países, incluyendo a Uruguay, que la patogenicidad y la virulencia de la enfermedad parece estar aumentada, viéndose en la clínica algunos casos de cuadros más severos y con mayor letalidad. Además se han podido detectar animales con antecedentes de vacunación que vuelven a la clínica presentando el cuadro típico de la enfermedad (Puentes y col., 2012; Calderón y col., 2009; Pérez y col., 2007).

El diagnóstico de Parvovirus canina, en la mayoría de los países, se realiza de forma presuntiva principalmente por antecedentes clínicos. Sin embargo, varios métodos se han desarrollado para detectar al patógeno a partir muestras de materia fecal: aislamiento viral en cultivos celulares, Hemoaglutinación, SAT (*Slide agglutination test*), ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas), SNAP (test comercial basado en el método del ELISA) e Inmunocromatografía (Desario y col., 2005; Marulappa y Kapil, 2009; Schmitz y col., 2009; Puentes y col., 2010, 2012). En Uruguay probablemente el diagnóstico sea también presuntivo por sintomatología clínica en la mayoría de las clínicas veterinarias, sin un diagnóstico definitivo de respaldo.

Hasta el momento no existen tratamientos específicos eficaces contra la enfermedad, siendo por lo tanto importante la profilaxis mediante vacunación de los animales susceptibles. En Uruguay, actualmente se comercializan diversas vacunas contra CPV, siendo en su mayoría a virus vivo atenuado y polivalentes (CPV-2, Coronavirus canino, Distemper virus y Adenovirus tipo 2) (Franco y Puentes, 2011).

Los cachorros de menos de cuatro meses de edad y perros adultos que no han sido vacunados contra Parvovirus canino, poseen un mayor riesgo de adquirir la enfermedad. Un plan de vacunación adecuado y la buena higiene son componentes de suma importancia en la prevención del Parvovirus canino. Los cachorros pequeños son muy susceptibles a la infección, particularmente porque la inmunidad natural provista en la leche materna disminuye antes de que el sistema inmune ya maduro de los cachorros tenga el tiempo suficiente para generar una respuesta inmune protectora (De Cramer y col., 2011).

Por lo anteriormente expuesto, en este trabajo se pretende analizar la situación actual de esta enfermedad en la ciudad de Montevideo, desde la presentación clínica actual, como se realiza el diagnóstico, los planes de vacunación utilizados por los distintos veterinarios, tipo de tratamientos que realiza y eficacia de los mismos, entre otros. Mediante una encuesta aleatoria se recabarán datos de lo que ocurre en la ciudad, los cuales luego de ser procesados y analizados aportarán información inexistentes en la actualidad acerca de CPV-2, que pretenderán acercarnos y comprender mejor la situación actual de la enfermedad en la ciudad de Montevideo.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. DESCRIPCIÓN Y EVOLUCIÓN DEL VIRUS DE LA PARVOVIROSIS CANINA

El CPV es un pequeño virus (26 nm de diámetro), desnudo, con una simple hebra de ADN de aproximadamente 5200 nucleótidos que está envuelta por una cápside icosaédrica conformada por dos proteínas, VP1 y VP2 (Strassheim y col., 1994). El CPV emergió en el año 1978 y fue denominado CPV-2 para distinguirlo del Virus Diminuto Canino (MVC o CPV-1), responsable de muertes neonatales en cachorros (Carmichael, 1994).

El origen de CPV-2 es todavía incierto, aunque la hipótesis es que derivó del virus de la Panleucopenia felina (FPV) o de los FPV-*like* provenientes de carnívoros salvajes. El CPV-2 pertenece a la familia *Parvoviridae*, la misma que se encuentra el FPV (Truyen, 1999). El CPV-2 ha sufrido una rápida evolución a lo largo del tiempo y en pocos años han aparecido nuevas variantes virales, denominadas CPV-2a y CPV-2b (Puentes, 2012). Estos nuevos virus han reemplazando completamente al original tipo 2 (CPV-2) a tal punto que no se detecta más este genotipo en la población canina, mientras que CPV-2a y CPV-2b están distribuidos por todo el mundo (Hoelzer y Parrish, 2010). Más recientemente, en la década del 2000, una nueva variante antigénica emergió en Europa denominándose CPV-2c (Buonavoglia y col., 2001). Este nuevo mutante tiene una sustitución aminoacídica, Asp-426-Glu, que ocurre en un residuo de la proteína de la cápside viral (VP2), considerada muy importante del punto de vista antigénico. Esta variante (CPV-2/Glu426), primeramente observada en Italia, actualmente ha sido detectada en muchos países en el mundo (Hoelzer y Parrish, 2010). Estas nuevas variantes difieren del CPV-2 original en al menos cinco o seis aminoácidos en la proteína VP2 de la cápside viral.

Estas mutaciones afectan residuos importantes de esta proteína incluyendo regiones altamente antigénicas (Martella y col., 2006). Por otro lado, las diferencias antigénicas observadas entre las variantes (CPV-2a, CPV-2b y CPV-2c) son la consecuencia del cambio en solo un aminoácido (Asn en 2a, Asp en 2b y Glu en 2c) también en el residuo 426 de la VP2.

Sobre las variantes circulantes en Uruguay y en la región, se destaca que en cuanto a la distribución de las nuevas variantes a nivel mundial, CPV-2a, CPV-2b y CPV-2c, circulan con diferentes frecuencias en los países de acuerdo a la región geográfica analizada.

En Uruguay la enfermedad está presente desde hace varias décadas. En un trabajo realizado con 30 muestras provenientes de distintos departamentos (Montevideo, Canelones, San José y Lavalleja) la principal variante viral detectada fue CPV-2c (Pérez y col., 2007). Por otro lado también se han realizado aislamientos y caracterización de CPV-2c en cultivos celulares a partir de animales enfermos (Puentes y col., 2012; Blanc y col., 2011). Recientemente Pérez y col. (2011) encontraron una mayor proporción de CPV-2a en muestras provenientes de casos clínicos ocurridos en caninos en el año 2010. Por lo tanto, hasta el momento las dos variantes que han sido detectadas con mayor frecuencia en casos clínicos en el Uruguay son CPV-2a y CPV-2c.

En referencia a algunos países de la región, en Argentina Calderón y col. (2011) encontraron la variante CPV-2c en mayor proporción de muestras positivas analizadas provenientes de distintas partes de ese país. Al analizar la secuencia completa de la VP2 de distintos aislamientos se pudo observar que, a nivel nucleotídico, muestras argentinas de CPV-2c tienen un 99,3% a 99,9% de identidad con relación a cepas internacionales de CPV-2c, mientras que la identidad a nivel de aminoácidos es de 99,7% a 100% (Calderón y col., 2012). Esto demuestra que existe un bajo grado de variabilidad en las secuencias analizadas de muestras provenientes de Argentina en relación a cepas internacionales. Sin embargo, los mismos autores encontraron sustituciones a nivel de aminoácidos relevantes en algunas muestras localizadas en regiones expuestas de la VP2 que pueden ser importantes. Por su parte en Brasil, se han detectado las variantes CPV-2a, CPV-2b y CPV-2c en diferentes proporciones en casos clínicos de las ciudades de Rio de Janeiro y Porto Alegre en los últimos años (Streck y col., 2009; Castro y col., 2011).

4.2. PATOGENICIDAD Y CUADRO CLÍNICO DE LAS NUEVAS VARIANTES VIRALES

La patogenicidad y el cuadro clínico presentan algunas diferencias que se advierten en comparación a años anteriores. Las leucopenias presentes en la actualidad son más intensas y de menor duración en el tiempo, asociada a una mayor mortalidad, observándose una patogenicidad también mayor; la diarrea hemorrágica se presenta menos en las nuevas variantes virales con un aumento aparente de la diarrea mucoide y la eliminación de partículas virales se produce durante más tiempo. Menor cantidad de partículas virales de las nuevas variantes parecen ser suficientes para que se presente la enfermedad clínica (Moon y col., 2008; Decaro y col., 2005; Decaro y col., 2011). Varios trabajos han descrito los hallazgos clínicos y hematológicos en perros infectados naturalmente (Hirasawa y col., 1987) o experimentalmente (Macartney y col., 1984) con la cepa original CPV-2. Sin embargo son escasas y algo contradictorias las investigaciones que comparan la patogenicidad de las nuevas variantes virales en relación a CPV-2. CPV infecta los perros a través de la ruta oronasal y alcanza la mucosa intestinal luego de una diseminación inicial por tejidos linfoides. La viremia puede ser intensa y persistir por varias semanas, mismo que el virus haya desaparecido del contenido intestinal (Decaro y col., 2007).

Los síntomas clásicos producidos por esta enfermedad mas allá de la variante viral presente, están relacionados en mayor o menor medida a cuadros de anorexia, letargia, vómitos y diarreas mucoides a hemorrágicas (Moon y col., 2008). Estos signos los comparte con otras enfermedades como Distemper, Coronavirus, Campilobacteriosis, Salmonelosis, Clostridiosis, Histoplasmosis, Ancylostomiasis, Coccidiosis, Criptosporidiosis (Couto y Nelson, 2011) Si comparamos la enfermedad producida por las nuevas variantes en relación al genotipo original, se ha visto que los genotipos CPV-2a y CPV-2b comúnmente causan una enfermedad más severa que CPV-2 (Decaro y col., 2005a). Se ha demostrado además que estas nuevas variantes, son eliminadas en mayor cantidad en materia fecal que el genotipo original (CPV-2) (Carmichael, 1994).

Por otro lado, en relación a las diferencias en cuanto a la patogenicidad entre las nuevas variantes, mediante la técnica de *Real Time* PCR, se ha investigado la

distribución de ADN viral en diferentes tejidos en perros infectados naturalmente con CPV-2a, CPV-2b y CPV-2c. En todos los tejidos analizados, se pudo detectar el genoma viral de los tres genotipos, demostrándose una amplia distribución del virus en el organismo y con un comportamiento similar entre las variantes estudiadas. La mayor carga viral fue detectada en tejidos linfoides con máxima cantidad en tonsilas de perros infectados con CPV-2c y en bazo de perros infectados con CPV-2b. Alta cantidad de virus también fue detectado en médula ósea en perros infectados con CPV-2a. Por otro lado, en la vejiga fue donde se encontró la menor cantidad de ADN viral y, sorpresivamente, los autores encontraron ADN viral en tejido nervioso (cerebro, cerebelo y bulbo encefálico). Finalmente, en la materia fecal el número de copias de ADN fue menor que en los órganos internos (Decaro y col., 2007). En este trabajo, no se encontraron diferencias importantes entre la infección con CPV-2a, 2b o 2c. En contrapartida, en perros infectados experimentalmente, Moon y col. (2008) sí encontraron que la variante CPV-2a es más patogénica que CPV-2b. En este sentido, también se ha visto que la variante CPV-2c produce síntomas algo diferentes de las causadas por las variantes CPV-2a/2b (por ejemplo diarrea mucoide en lugar de hemorrágica) (Decaro y col., 2005a).

En lo que respecta a la virulencia de las nuevas variantes en infecciones de células *in vitro*, Puentes y col. (2012) encontraron que la variante CPV-2c produjo menos efecto citopático (CPE) en cultivos celulares de la línea CRFK (*Cat Kidney Cortex Epithelial Cells*-Células epiteliales de la corteza renal de gato) que en cultivos primarios obtenidos a partir de corazón fetal canino (FCH). La cepa CPV-2 de referencia no mostró diferencias en cuando al CPE producido entre estos dos cultivos celulares. Todos estos trabajos, si bien representan información relevante para la comprensión de la virulencia de las nuevas variantes virales de CPV en perros, tienen la limitante del escaso número de animales estudiados y de que algunos de ellos han sido evaluados en infecciones experimentales o *in vitro*. Por lo tanto, aun no son suficientes las investigaciones existentes, para comprender con exactitud la virulencia de las nuevas variantes virales de Parvovirus canino, comparando con el genotipo original de la enfermedad (CPV-2). Sin embargo, parece ser que del punto de vista clínico actualmente existe una mayor patogenicidad y severidad de la enfermedad en los animales diagnosticados por veterinarios. Si bien esta apreciación clínica es importante no se tiene información suficiente sobre los posibles cuadros clínicos leves producidos por CPV-2c que no llegan al consultorio y se recuperan sin atención veterinaria. Finalmente, existe una percepción clínica que solo los cachorros son susceptibles a la infección inducida por CPV-2. En este sentido, se han descrito brotes de esta enfermedad asociado a enteritis y mortalidad en perros adultos, pero la incidencia probablemente sea muy baja (Decaro y col., 2008).

4.3. DIAGNÓSTICO VIRAL

Actualmente se realizan diferentes estrategias para el diagnóstico viral de CPV, si bien la anamnesis y los síntomas clínicos son fundamentales para realizar el diagnóstico, existen distintos patógenos que pueden causar cuadros similares en perros. Por lo tanto es conveniente la realización del diagnóstico definitivo utilizando una técnica de laboratorio.

Varios métodos han sido desarrollados para el diagnóstico de CPV-2: aislamiento viral, Hemoaglutinación, SAT (*Slide agglutination test*), ELISA, SNAP (test comercial basado en el método del ELISA) e Inmunocromatografía. Todos son métodos muy utilizados para el diagnóstico a partir de materia fecal de animales enfermos (Desario y col., 2005; Marulappa y Kapil, 2009; Schmitz y col., 2009; Puentes y col., 2010, 2012). Sin embargo, la sensibilidad de algunas de estas técnicas es relativamente baja, siendo demostrado por algunos autores que los test rápidos para el diagnóstico en materia fecal (ej. SNAP test), tienen una alta especificidad pero pobre sensibilidad, al comparar con técnicas más sensibles (Esfandiari y Klingeborn, 2000; Desario y col., 2005; Schmitz y col., 2009).

Actualmente otros métodos basados en la detección de ADN viral pueden ser utilizados para el diagnóstico virológico. Se ha demostrado que la Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR), la *Real Time* PCR y la MGB (*Minor groove binder*), tienen alta sensibilidad para la detección de CPV-2 (Decaro y col., 2005a, 2005b).

Con la *Real Time* PCR y la MGB, es posible además cuantificar el ADN viral presente en la materia fecal de perros infectados y es una técnica con alta especificidad, realizándose en un tiempo menor que la PCR convencional con gel de agarosa (Decaro y col., 2005, 2005b). En un estudio realizado, de un total de 89 muestras analizadas de perros con diarrea, se encontró que la *Real Time* PCR fue capaz de diagnosticar el mayor número de animales positivos a CPV-2 (n=73), seguidas por PCR (n=68), aislamiento viral (n=54), Hemaglutinación (n=50) e inmunocromatografía (n=41) (Desario y col., 2005).

Si bien estos resultados demuestran que la *Real Time* PCR es actualmente el mejor método para diagnosticar CPV-2, no es una técnica realizable a nivel de clínicas veterinarias, lo que dificulta su utilización de rutina por veterinarios. Actualmente una de las técnicas más utilizada para el diagnóstico rápido a nivel de clínicas veterinarias es la Inmunocromatografía. Es un método simple que puede ser realizado por veterinarios y por los propios dueños de las mascotas para confirmar la sospecha clínica de la enfermedad (Esfandiari y Klingeborn, 2000). Sin embargo se sabe que en estados tardíos de la infección los altos niveles de anticuerpos en el lumen intestinal pueden secuestrar la mayoría de los viriones, por lo que los test que se basan en la unión antígeno-anticuerpo (ej. Inmunocromatografía, hemoaglutinación y ELISA) pueden dar resultados falsos negativos (Desario y col., 2005).

En este sentido, Puentes y col. (2010), encontraron baja concordancia en un estudio realizado donde se comparó el diagnóstico clínico realizado por veterinarios con el diagnóstico por las técnicas de Inmunocromatografía y Hemoaglutinación. Estos hallazgos advierten sobre las posibles diferencias que se pueden encontrar entre la clínica y estas técnicas actualmente disponibles, debiéndose ser cauteloso en la interpretación de resultados obtenidos para esta enfermedad.

4.4. RESPUESTA INMUNE Y SITUACIÓN DE LA POBLACIÓN CANINA EN URUGUAY

La respuesta inmune protectora contra Parvovirus es predominantemente humoral, siendo los anticuerpos capaces de neutralizar la mayoría de las partículas virales. La importancia de los anticuerpos en la protección contra la infección ha sido

demostrada por la efectividad de la inmunidad materna mediada por anticuerpos que confiere eficientemente protección contra Parvovirus en las primeras semanas de crecimiento del cachorro. Por lo que la enfermedad ocurre predominantemente en animales jóvenes luego que los anticuerpos maternos han disminuido (Pollock y Carmichael, 1982). La respuesta inmune humoral adquirida por los animales inmunizados naturalmente o por vacunación debería estimular preferentemente la producción de Inmunoglobulinas A (IgA) a nivel local. Se ha visto que existe una relación directa entre títulos de IgA entéricos y la recuperación de la enfermedad (Rice y col., 1982).

Esto concuerda con observaciones de Bienenstock y Befus (1982), quienes describen una resistencia inmunológica a nivel de mucosas en ausencia inclusive de títulos séricos de anticuerpos. Finalmente, en relación a la protección cruzada *in vitro* conferida por los anticuerpos contra las distintas variantes virales, se ha encontrado diferencias significativas entre la respuesta contra virus homólogos y virus heterólogos (Cavalli y col., 2008).

En lo que respecta a la inmunidad mediada por células, se ha visto que claramente juega un rol importante y tiene que ver fundamentalmente con la recuperación de la enfermedad (Hoelzer y Parrish, 2010). En la práctica, en cuanto a los títulos de anticuerpos que protegen contra CPV, se ha descrito que títulos hemoaglutinantes iguales o mayores a 1/80 protegen contra la infección. Sin embargo algunos autores han observado que perros con títulos hemoaglutinantes de 1/160, y que fueron infectados experimentalmente con CPV-2b, tienen una replicación activa de virus luego del desafío. Estos resultados demuestran que la infección con CPV puede ocurrir incluso en presencia de títulos mayores o igual a 1/80, usualmente considerados protectores (Elia y col., 2005) y que quizás la hemoaglutinación no sea la técnica más adecuada para evaluar la respuesta humoral en perros infectados con el virus (Cavalli y col., 2008).

No existen suficientes trabajos científicos en Uruguay que demuestren los niveles de anticuerpos y el riesgo de contraer infección de la población canina vacunada y/o no vacunada. En un estudio realizado recientemente con 142 sueros de animales adultos provenientes de la ciudad de Montevideo, y sin antecedentes de vacunación, se encontró que un 89,4% y un 91% de los animales fueron seropositivos a CPV-2 y CPV-2c respectivamente, con títulos hemoaglutinantes promedios de 1/930 y 1/1370 (Eliopulos y col., 2010). Por un lado, este trabajo demuestra el alto porcentaje de inmunización natural que ocurre con CPV en estos animales. Si bien ya no se detecta la variante CPV-2 en la naturaleza existen reacciones cruzadas entre esta y las nuevas variantes lo que explica el alto porcentaje encontrado en ese estudio.

4.5. PROFILAXIS Y EFICACIA DE LAS VACUNAS EXISTENTES

La eficacia de las vacunas actuales y la respuesta inmune protectora que inducen frente a las nuevas variantes virales, es discutida, ya que los resultados de trabajos realizados hasta la actualidad son contradictorios. Algunos afirman que las vacunas tradicionales con las variantes originales protegen contra las nuevas cepas y otros demuestran una baja reacción cruzada de anticuerpos *in vitro* entre la cepa original y las nuevas variantes (Puentes, 2012).

La respuesta inmune contra CPV generada por una vacuna puede estar influenciada por varios factores. Dentro de los que tiene que ver con la vacuna en sí, la viabilidad del virus y el título viral en la misma, el grado de atenuación del patógeno, las propiedades antigénicas de las cepas vacunales y la ruta de administración, son factores importantes (De Cramer y col., 2011).

En Uruguay, no se realizan controles de potencia en las vacunas comerciales que verifiquen la inmunogenicidad de las mismas y la capacidad de inducir una respuesta inmune protectora. Franco y Puentes (2011), evaluaron la capacidad infectante *in vitro* de las vacunas a virus atenuado que se comercializan en el Uruguay, encontrando que 8 de 10 vacunas analizadas tenían al menos el virus viable capaz de replicarse en cultivos celulares. Esto no quiere decir que las vacunas funcionen, pero significa que en un principio el virus se encuentra en condiciones de replicarse en células y potencialmente inducir una respuesta inmune.

Factores inherentes al animal como ser el estado nutricional, sanitario y la presencia de los anticuerpos maternos, también pueden condicionar el desarrollo de una adecuada respuesta inmune. La edad para realizar la primera vacunación en cachorros contra CPV y la interferencia de los anticuerpos maternos ha sido discutida en numerosas publicaciones (Pollock y Carmichael, 1982; Lida y col., 1990; Pratelli y col., 2000; Day, 2007).

Lo cierto es que, se ha demostrado que en ausencia de la inhibición de los anticuerpos maternos los cachorros son capaces de montar una respuesta inmune protectora a muy temprana edad (Day, 2007). Se ha observado que títulos de anticuerpos hemoaglutinantes maternos $\geq 1:20$, son capaces de interferir con la respuesta inmune luego de la administración de la vacuna en el cachorro pero no son capaces de prevenir la infección por cepas de campo. No obstante, títulos iguales o mayores a 1:64 son considerados suficientes para proteger contra ambos (infección por la vacunación y enfermedad). Por ende, estos títulos pueden interferir con la inmunización y dejar los cachorros susceptibles a la infección (Pollock y Carmichael, 1982).

Se ha observado que esta «ventana de interferencia» está entre los 40 y 69 días de edad en los cachorros (Lida y col., 1990). Sin embargo, este periodo puede variar en caso que los animales se expongan a cepas virulentas de campo de CPV. Un estudio demostró que los títulos de anticuerpos maternos declinan más rápidamente si el cachorro es desafiado con el virus (Macartney y col., 1988). Por este motivo, es que se aconseja vacunar a los cachorros a los 30 días de edad, a fin de acortar esta ventana de susceptibilidad. Además, más recientemente, De Cramer y col. (2011), realizaron un experimento con 86 perros y demostraron que la mayoría de los animales (80%) con presencia de distintas concentraciones de anticuerpos maternos seroconvirtieron favorablemente cuando inmunizados a las 30 días de edad. Estos resultados son algo contradictorios a los desarrollados por Pollock y Carmichael (1982), comentado anteriormente.

Experimentos realizados por Pratelli y col. (2001), demostraron que cachorros inmunizados con vacunas con CPV-2 tuvieron títulos de anticuerpos neutralizantes significativamente más altos contra el virus homólogo (CPV-2) que contra el virus heterólogo (CPV-2b). Por otra parte, cachorros inmunizados con vacunas con CPV-

2b tuvieron similares títulos de anticuerpos neutralizantes para ambos virus. Sin embargo a pesar de todo, según estos autores, el problema puede no ser tan crítico, teniendo en cuenta que los títulos de anticuerpos heterólogos, alcanzarían para proteger los cachorros inmunizados con vacunas CPV-2. Ohshima y col. (2008) encontraron que anticuerpos producidos por perros inmunizados con vacunas con cepa CPV-2, no reaccionaron eficientemente con recientes aislamientos de CPV (CPV-2a/2b), cuando fueron comparados con los sueros de animales vacunados con las cepas homólogas. Lo que induciría a pensar que la respuesta frente a virus heterólogos no es adecuada y pueden exponer los animales a la infección a las nuevas variantes. En este sentido, existen evidencias de animales enfermos que tenían historia de vacunación con cepas CPV-2, en los cuales se detectó la presencia de CPV-2c en materia fecal (Pérez y col., 2007; Puentes y col., 2011, Calderón y col., 2011). Contrario a estos resultados, algunos autores afirman que animales inmunizados experimentalmente con vacunas conteniendo la cepa CPV-2, están protegidos del desafío con cepas CPV-2b y CPV-2c (Spibey y col., 2008; Siedek y col., 2011). Por lo tanto, como se puede observar, aún no son suficiente concordantes los experimentos, para decir a ciencia cierta, si realmente es necesaria la actualización de las cepas utilizadas en las vacunas contra CPV.

4.6. ENCUESTAS Y SISTEMAS DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA PARA EL CONTROL DE CPV

Algunos países como Australia, Italia y Ecuador aplican encuestas o sistemas de vigilancia epidemiológica para llevar un control de la enfermedad en el país. Brady y col. (2012), en Australia realizaron un trabajo donde describieron la relación entre la aparición de la enfermedad; el rol de los indicadores socioeconómicos humanos (desventajas socioeconómicas, accesos a los recursos económicos, nivel de educación y estatus ocupacional) y factores relacionados al animal (raza, edad, estatus de vacunación), que podrían influir en el desarrollo de los grupos enfermos.

Por otra parte, en Italia (Martella y col., 2005), realizaron un trabajo para monitorear la distribución de las variantes antigénicas en dicho país, desde el año 1997 y por un periodo de 8 años, donde determinaron la variante viral predominante en dicho país a partir de 327 muestras de materia fecal provenientes de cachorros afectados con gastroenteritis. La realización del diagnóstico e identificación de la variante viral mediante la combinación de análisis genéticos (PCR, *Real Time* PCR) y antigénicos (HA, IHA).

En Ecuador se realizó un trabajo donde el objetivo fue evaluar la prevalencia y mortalidad de la CPV en la ciudad de Bolívar y la factibilidad de los modelos ARIMA (*Auto-Regressive Integrated Moving Average*), también conocido como Modelo de Box-Jenkins para su análisis y predicción. Se utilizaron datos retrospectivos obtenidos en el hospital veterinario "Caninos y Felinos" de la ciudad de Guaranda, se evaluó la prevalencia y mortalidad mensual de la enfermedad, definiéndose con los valores obtenidos, series de tiempo a las que se le ajustó el modelo matemático Box-Jenkins. Los modelos ajustados a las series fueron utilizados para pronosticar

los valores del año 2011. Este trabajo concluye que la prevalencia y la mortalidad tienen un patrón estacional semestral y pueden modelarse y pronosticarse con elevada precisión mediante el modelo Box-Jenkins, siempre que las observaciones se puedan expresar como una serie en el tiempo. (Aldaz y col., 2012).

En Uruguay no se encontraron registros oficiales de monitoreo epidemiológico de CPV que intenten llevar a cabo un sistema de vigilancia epidemiológica ya sea en lapso determinado de tiempo (como los trabajos anteriormente citados) o continuo.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Conocer la opinión de los veterinarios sobre la situación clínico-epidemiológica de la Parvovirus canina en la ciudad de Montevideo.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

5.2.1. Recabar información acerca de la epidemiología, síntomas y diagnóstico de casos clínicos de Parvovirus canino.

5.2.2. Conocer y describir los tratamientos médicos que se realizan actualmente en las distintas clínicas veterinarias, y determinar su tasa de éxito.

5.2.3. Describir los distintos planes de vacunación realizados en las clínicas veterinarias encuestadas.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Metodología de investigación.

Se realizó un estudio basado en datos provenientes de una encuesta aleatoria, anónima y personal a Veterinarios en actividad mediante el método de formato impreso, en única instancia, en el período comprendido entre el mes de octubre de 2012 a febrero de 2013.

Basados en cálculos estadísticos empleando un nivel de confianza del 95% con un error del 0,1 y para una proporción del 0,5, se encuestaron un total de 70 veterinarias distribuidas en la ciudad de Montevideo, representando un 29,3% del total de clínicas veterinarias registradas (239) en la Dirección de Laboratorios Veterinarios (DILAVE), del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP) (www.mgap.gub.uy/DGSG/DILAVE/Dilave.htm). La elección de las clínicas veterinarias se realizó al azar e incluyó los siguientes barrios: Aguada, Aires Puros, Atahualpa, Barros Blancos, Bella Vista, Belvedere, Bolívar, Brazo Oriental, Buceo, Carrasco, Cerro, Cerrito de la Victoria, Colón, Cordón, Goes, Jacinto Vera, La Blanqueada, La Teja, Las Acacias, Malvín, Manga, Maroñas, Pajas Blancas, Palermo, Parque Rodó, Paso de la Arena, Paso Molino, Peñarol, Pueblo Victoria, Pocitos, Punta Carretas, Punta Rieles, Reducto, Sayago, Tres Cruces, Unión, Villa Española (Fig. 2).

A partir del listado confeccionado por DILAVE se sortearon las clínicas veterinarias de forma aleatoria. La metodología de la encuesta se basó en contactar previamente de forma telefónica al clínico a cargo del establecimiento sorteado, para así explicarle los objetivos del trabajo. Durante dicha comunicación se evaluó la disposición del clínico para colaborar con el proyecto. En caso de una respuesta positiva, se pidió al responsable la debida autorización para concurrir al establecimiento para completar el formulario con las preguntas preestablecidas.

La encuesta incluyó preguntas que actualmente generan polémicas, controversias y dudas respecto a la patogenia, evolución, diagnóstico, tratamiento y profilaxis del CPV en Montevideo (Anexo). Además se describió la presencia de la enfermedad en cada estrado socio-económico del barrio muestreado según el Departamento de Sociología, Facultad de Ciencias, UdelaR, Uruguay (Fig.1).

Para el análisis de los datos se utilizaron planillas electrónicas con variables categóricas y numéricas. Se utilizó estadística descriptiva en base a porcentajes y frecuencias. La presentación de los datos fue realizada en forma de gráficos.

7. RESULTADOS

En cuanto al número de animales de la especie canina atendidos en promedio entre las clínicas encuestadas, los veterinarios declararon atender aproximadamente 30 perros por semana. En el total de las veterinarias, las principales enfermedades infecciosas diagnosticadas clínicamente son Parvovirus canino (CPV) (40%), Distemper canino (32%), cuadros parasitarios (19%), piodermias (5%), cuadros respiratorios (3%) y otras causas (1%) (Fig. 3). Si describimos por estrato socioeconómico (Fig. 1), la principal enfermedad infecciosa diagnosticada en los barrios de estrato socioeconómico inferior es CPV con el 75 % de las clínicas, mientras que en los barrios de estrato socioeconómico medio-inferior, medio-superior y superior, la principal enfermedad diagnosticada es CPV con el 77,2%, Parasitarias con el 41% y Piodermias con el 45%, respectivamente.

En referencia a las estaciones de año donde aparecen más cuadros de Parvovirus canino, en un 88.6% de las clínicas la enfermedad se presenta con mayor casuística en primavera-verano, para el 7,1% en otoño-invierno y para el 4,3% se presenta de forma igual durante todo el año (Fig. 4).

En lo que se refiere a la sintomatología de CPV, los principales síntomas encontrados actualmente son decaimiento, vómitos, diarreas hemorrágicas, deshidratación y fiebre (Fig. 5). La frecuencia que se observan estos síntomas son los siguientes:

- a. Decaimiento: el 64% de las clínicas lo ven siempre, un 34% lo ven como muy frecuente y un 2% lo ven poco.
- b. Vómitos: 37,3% lo ven siempre, 57% muy frecuente y 5,7% lo ven poco frecuente.
- c. Diarrea mucoide: 8,7% lo ven siempre, 25,6% lo ven muy frecuente, 64,3% lo ven poco frecuente y en el 1,4% no la ven nunca;
- d. Diarrea hemorrágica: 40% lo ven siempre, 54,3% muy frecuente, 5,7% lo ven poco frecuente.
- e. Deshidratación: 42,8% la ven siempre, 48,6% la ven muy frecuente y el 8,6% la ven poco frecuente.
- f. Fiebre (temperatura superior a 39,5°C): 10% la ven siempre, 36% la ven muy frecuente, el 50% la ven poco frecuente y el 4% no la ven nunca.
- g. Signos neurológicos: un 0% siempre, 1,5% los ven muy frecuente, 15,7% los ven poco frecuente y el 82,8% nunca los observan.

En cuanto a la mortalidad neonatal causada por CPV, en el 80% de las veterinarias no presentaron mortalidad en cachorros menores a 15 días de nacidos. Sin embargo el 20% restante sí, de los cuales el 4,3% tuvieron diagnóstico definitivo de la enfermedad.

En lo que refiere a la gravedad de la enfermedad actual comparando con años anteriores, el 31,4% de los clínicos creen que la severidad de CPV ha sido igual, mientras que el 50% cree que actualmente es más grave el cuadro clínico y para el 18,6% la enfermedad actualmente es más leve que años anteriores.

Con respecto a las técnicas complementarias utilizadas para apoyar el diagnóstico clínico de las distintas enfermedades presentes, el 62,8% de las clínicas

encuestadas utilizan alguna técnica de laboratorio disponible en plaza. Las principales técnicas utilizadas son Hemograma (45,5%), coprología parasitaria (29,5%) e Inmunocromatografía (25%). Específicamente para el caso de CPV, ante una sospecha clínica, el 71,5% de los veterinarios utilizan pruebas complementarias, mientras que el restante 28,5% basan el diagnóstico principalmente en la sintomatología clínica, edad del animal, anamnesis, epidemiología, etc. Las pruebas diagnósticas complementarias utilizadas son: hemograma (41,4%), test de inmunocromatografía para CPV (2,8%), y el 27,1% combina hemograma con el test de inmunocromatografía. En unos pocos casos se presentó la combinación de hemograma o test de inmunocromatografía con una técnica de laboratorio como PCR o ELISA.

El 100% de los encuestados realizan tratamiento médico sintomático para los casos de CPV. El mismo está basado en el uso principalmente de fluidos, suero fisiológico o de Ringer con lactato, antibiótico, multivitamínico y antieméticos. Solamente el 2,8% del total, incluye como parte del tratamiento la transfusión sanguínea. La duración promedio de los tratamientos es de 0 a 3 días en el 8,5% de los casos; de 4 a 6 días en el 63% y más de 7 días de tratamiento en el 28,5% de los casos (Fig. 6). Por otro lado, la efectividad en el tratamiento (porcentaje de animales tratados que sobreviven a la infección con CPV) declarada por los clínicos es de 0-30% en el 20% de los casos, de 40-70% en un 67 % de los casos y de 80-100% de éxitos en el tratamiento en el 13% de los casos (Fig. 7).

En cuanto a la profilaxis de la enfermedad, el 100% de las clínicas realiza vacunaciones, presentando variaciones en los planes de vacunación implementados. El 90% realiza primovacuna a los 45 días de nacido el cachorro y 2 revacunaciones cada 21 días. El 4,3% realiza primovacuna a los 45 días de nacido el cachorro y 2 revacunaciones cada 30 días. El 5,7% realiza primovacuna a los 30 días de nacido el cachorro y 3 revacunaciones cada 21 días.

Haciendo referencia a la marca de vacunas utilizadas, el 81,4% de los clínicos prefieren realizar todo el plan de vacunación con una sola marca de vacuna, mientras que el 18,6% restante combinan distintas marcas. Del 81,4% que utilizan una sola marca de vacuna, el 47,3% tienen casos con sintomatología de CPV en animales previamente vacunados; mientras que del 18,6% que combinan distintas marcas de vacuna, el 84,6% tienen casos con sintomatología de CPV en animales vacunados previamente.

En total, en 38 clínicas (54,2%) se presentan casos de CPV en animales previamente vacunados. Sin embargo, solamente en 21 de ellas, se realizaron diagnóstico de laboratorio y en 15 se diagnosticó CPV-2c.

8. DISCUSIÓN

Este trabajo es la primera encuesta representativa sobre Parvovirus canina que se realiza de la ciudad de Montevideo con el objetivo de conocer la situación de la enfermedad y la percepción actual de los clínicos que ejercen la profesión. La importancia de la enfermedad en los últimos años se ha incrementado, debido a la aparición de nuevas variantes virales (CPV-2a, CPV-2b y CPV-2c), lo que supone cambios principalmente a nivel de aspectos clínicos-epidemiológicos y de la eficacia de las vacunas disponibles en la actualidad (Puentes, 2012). En este sentido, de los resultados obtenidos a partir de las encuestas realizadas, se puede observar que la Parvovirus canina resulta ser la enfermedad infecciosa con mayor porcentaje de diagnóstico en las clínicas Veterinarias de la ciudad de Montevideo. Esto se basa en el hecho de que el 40% de las mismas consideran a dicha enfermedad como la más diagnosticada clínicamente en el último año. De éstas, más del 60% realizan un diagnóstico paraclínico de la enfermedad (Fig. 3).

La aparición de CPV en los cachorros, está muy relacionada a diversos factores, dentro de los que se destacan la falta de un correcto plan de inmunización a temprana edad y la exposición del animal al “virus de calle” (Ling y col., 2012). Esto nos indica que en las zonas o barrios donde la vacunación de los animales se hace masiva y correctamente, la enfermedad clínica no está presente o aparece en raras ocasiones (Brady y col., 2012). Para comprobar esto, se procedió a la clasificación de los barrios encuestados según el estrato socioeconómico de la población que allí viven. Los resultados mostraron que en los barrios más carenciados, CPV es la enfermedad más prevalente dentro de los diagnósticos clínicos que realizan los veterinarios. Mientras que en los barrios de nivel socioeconómico superior, esto no se comporta así.

En lo que respecta a la época del año, la aparición de la enfermedad está muy relacionada a las estaciones de mayores temperaturas (primavera-verano). Es así que CPV aparece con mayor frecuencia en los meses de verano (Ling y col., 2012). En este trabajo, el 88,6% de los encuestados declararon que la enfermedad aparece más frecuentemente en los meses de primavera-verano (Fig. 4). Esta marcada asociación, puede ayudar de alguna manera a los clínicos veterinarios de nuestro medio, a la hora de la realización de un diagnóstico presuntivo de CPV, teniendo en cuenta el momento de mayor aparición de la enfermedad.

Los principales síntomas de CPV observados por los veterinarios encuestados fueron decaimiento, vómitos, diarreas, deshidratación y fiebre (Fig. 5). Estos hallazgos son similares a los encontrados en casos clínicos de CPV en otros países y varían su frecuencia de aparición según el estadio de la enfermedad al llegar al consultorio veterinario (Green, 2006). En los últimos años, han aparecido sospechas de síntomas nerviosos causados por CPV. Si bien han sido muy esporádicas las consultas de veterinarios que acuden al Dpto. de Ciencias Microbiológicas de la Facultad de Veterinaria para informarse al respecto, las consultas continúan siendo realizadas con una frecuencia baja. Url y Schmidt (2005), al estudiar casos con y sin síntomas neurológicos por hibridación *in situ*, afirman que CPV no es capaz de replicarse en neuronas caninas. Sin embargo, utilizando técnicas más sensibles, otros autores han analizado la presencia del virus en distintos tejidos de animales infectados naturalmente con las nuevas variantes de virus (CPV-2a, CPV-2b y CPV-

2c), encontrándose ADN viral o ARNm en varios tejidos por *Real Time* PCR, incluyendo el tejido nervioso (cerebro, cerebelo y bulbo encefálico) (Decaro y col., 2007; Elia y col., 2007). Esto induce a pensar que el virus está replicándose en Sistema Nervioso y probablemente sea la causa de los signos neurológicos evidenciados por algunos clínicos relacionados principalmente a encefalitis. Es importante tener presente que mientras no se realice el diagnóstico definitivo, no se puede afirmar que los cuadros actuales de CPV estén cursando con signos neurológicos. En cuanto a este aspecto, en las encuestas realizadas, algunos clínicos manifestaron que en algunos pacientes con sospecha de CPV, al evidenciar síntomas nerviosos (abatimiento, estupor o mioclonias), desviaban el diagnóstico para Distemper canino, descartando que la causa fuera Parvovirus canino. De un modo general, a pesar de que la enfermedad parece haber cambiado su presentación a raíz de las nuevas variantes virales y que el 50% de las clínicas creen que la enfermedad actualmente es más severa, no se vio evidencia de ello en las encuestas realizadas.

Referente al tiempo y éxito del tratamiento, se sabe que estos parámetros pueden variar según la sintomatología clínica presente con la que llega el animal al consultorio. Cuadros clínicos que cursan con vómitos y depresiones, están asociados a mayor tiempo de hospitalización, así como cachorros que llegan con evidencia de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, la probabilidad de supervivencia disminuye (Kalli y col., 2010). En este sentido, el éxito del tratamiento realizado por los clínicos encuestados en este trabajo, alcanzan un 40-70% de sobrevivencia en la mayoría de las clínicas (63%) (Fig. 7), lo que justificaría intensificar el tratamiento mismo en casos severos de la enfermedad. El tratamiento que se realiza contra la enfermedad es de tipo sintomático básicamente y solo en dos de ellas utilizan transfusiones de sangre y/o plasma como parte del tratamiento de sostén. Cabe destacar que este tipo de práctica puede influir positivamente en la evolución del cuadro aplicándose principalmente cuando se presenta un cuadro asociado a anemia grave o cuando los niveles de albúmina sérica es menor a 2g/dl, dado sus múltiples e inmediatos beneficios en la respuesta orgánica del paciente, influyendo directamente en el porcentaje de animales que curan y sobreviven a la enfermedad (Guptill, 2011; Couto y Nelson, 2011).

En cuanto al diagnóstico de la enfermedad, si bien los hallazgos clínicos apoyado en una buena anamnesis nos permite acercarnos muy probablemente al diagnóstico de CPV, es sabido que otros agentes pueden provocar síntomas similares en los animales, ya sean por causas no infecciosas (ej. gastroenteritis hemorrágica por cuerpos extraños) o infecciosas como por ejemplo Distemper canino, Coronavirus canino, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli* (Decaro y col., 2007). El diagnóstico diferencial es complejo y lleva a confusiones dado que muchas veces y en algunos casos son muy pequeñas las diferencias en los signos y síntomas que presentan, tanto es así que en Campylobacteriosis afecta generalmente animales en condiciones de hacinamiento y tiende a ser autolimitante en caninos. En cuanto a Salmonelosis, rara vez se confirma como enfermedad gastrointestinal canina, puede producir diarrea aguda o crónica con septicemia y/o muerte súbita en animales juveniles. Respecto a Clostridiosis presenta cuadros de diarreas similares a Parvovirus pero son autolimitantes. La enteritis Coronaviral es mucho menos grave que la enteritis Parvoviral clásica y rara vez ocasiona diarrea hemorrágica, septicemia o muerte. Los coccidios pueden carecer de importancia clínica o son

responsables de diarreas leves a copiosas a veces con sangre. Criptosporidiosis presenta como signo clínico más común en los caninos la diarrea por lo general en perros menores a 6 meses (Couto y Nelson, 2011). Es así, que el 71,5% de las clínicas encuestadas en este trabajo, declararon utilizar al menos una de las pruebas de laboratorio disponibles en plaza para el diagnóstico de CPV. De las cuales, solo casi el 30% utiliza técnicas específicas para el diagnóstico del virus. Teniendo en cuenta la importancia que tiene del punto de vista epidemiológico para el dueño de las mascotas, saber que su animal padece o murió de CPV y que esto debe ser tenido en cuenta a la hora de traer otra mascota al ambiente del animal afectado, se consideran escasas las clínicas veterinarias que realizan un diagnóstico definitivo de la enfermedad. Como se ha demostrado, el virus de la Parvovirus canina es muy resistente en el ambiente, pudiendo permanecer por muchos meses, hasta infectar otro animal (Green, 2006). Cuando se cuestionó a los veterinarios actuantes la razón por la cual no se utilizan más a menudo alguna técnica de laboratorio para confirmar la etiología, la respuesta general obtenida fue que la limitante económica por parte de los propietarios de los pacientes, es el principal obstáculo para dicho diagnóstico etiológico. Esto conlleva a que el médico veterinario establezca su diagnóstico presuntivo basándose en los síntomas “característicos-clásicos” de la enfermedad.

Finalmente, en lo que respecta a la profilaxis, la totalidad de las clínicas encuestadas utilizan vacunas para prevenir la enfermedad. El 90% utiliza un plan de vacunación basado en una primovacuna a los 45 días (evitando la “interferencia materna”) y dos revacunaciones a los 21 días. Se ha visto que esta «ventana de interferencia» está entre los 40 y 69 días de edad en los cachorros (Lida y col., 1990), siendo el momento ideal para iniciar el plan de inmunización. Sin embargo, este periodo puede declinar más rápidamente si el cachorro es desafiado con el “virus de calle” (Macartney y col., 1988). Por este motivo, es que se aconseja vacunar a los cachorros a los 30 días de edad sin perder eficacia en la respuesta inmune. De Cramer y col. (2011), demostraron a través de un experimento con 86 perros, que la mayoría de los animales (80%) con presencia de distintas concentraciones de anticuerpos maternos, seroconvirtieron favorablemente cuando fueron inmunizados a los 30 días de edad.

9. CONCLUSIONES

Sobre la muestra estudiada al momento de las encuestas, se concluye que la gran mayoría de las clínicas veterinarias declaran tener un alto porcentaje de diagnóstico clínico de CPV.

Los síntomas clínicos evidenciados por los veterinarios en las clínicas relevadas en la encuesta son principalmente decaimiento, vómitos y diarrea hemorrágica. Por otra parte los síntomas menos encontrados por los clínicos fueron los neurológicos, la diarrea mucoide y fiebre.

La realización de técnicas paraclínicas específicas para el diagnóstico de CPV continúa siendo una limitante importante, dado que, depende principalmente de la disponibilidad económica del propietario del paciente y no de la disponibilidad de dichas técnicas en plaza.

El plan de vacunación mayormente utilizado en cachorros se basa en una primovacunación a los 45 días de vida, seguida de dos *boosters* distantes 21 días entre ellos.

10. BIBLIOGRAFÍA

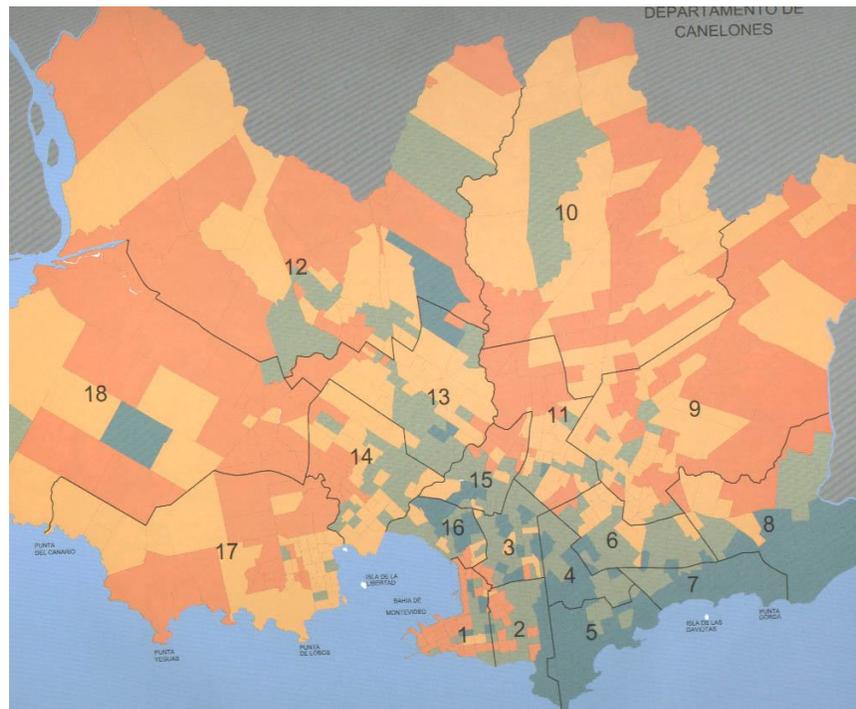
1. Aldaz J.W., García J.R., Quiñones R. (2012). Parvovirus canina en la provincia Bolívar, Ecuador. Utilidad de los modelos Box-Jenkins para su análisis y predicción. *Salud Anim* 34(3):165-172.
2. Bienenstock J, Befus AD. (1982). Mucosal immunology. *Immunology* 41:249-470.
3. Blanc A, Negro C, Berois M, Reolon E, Arbiza J. (2011). Isolation and characterization of canine parvovirus type 2c circulating in Uruguay. *Ciencia Rural* 41:1436-1440.
4. Brady S, Norris JM, Kelman M, Ward MP. (2012). Canine parvovirus in Australia: the role of socio-economic factors in disease clusters. *Vet J.* 193(2):522-528.
5. Buonavoglia C, Martella V, Pratelli A, Tempesta M, Cavalli A, Buonavoglia D, Bozzo G, Elia G, Decaro N, Carmichael LE. (2001). Evidence for evolution of canine parvovirus type-2 in Italy. *J Gen Virol* 82:1555-1560.
6. Calderón MG, Wilda M, Boado L, Keller L, Malirat V, Iglesias M, Mattion N, La Torre J. (2012). Study of canine parvovirus evolution: comparative analysis of full-length VP2 gene sequences from Argentina and international field strains. *Virus Genes* 44:32-39.
7. Carmichael LE. (1994). Canine parvovirus type-2. An evolving pathogen of dogs. *Ann Med Vet* 138:459-464.
8. Castro TX, Costa EM, Leite JP, Labarthe NV, Cubel Garcia RC. (2011). Monitoring of canine parvovirus (CPV) strains detected in vaccinated puppies in Brazil. *Res Vet Sci* 90:336-340.
9. Cavalli A, Martella V, Desario C, Camero M, Bellacicco A, De Palo P, Decaro N, Elia G, Buonavoglia C. (2008). Evaluation of the Antigenic Relationships among Canine Parvovirus Type 2 Variants. *Clin Vaccine Immunol* 15:534-539.
10. Couto G, Nelson R (2011) *Medicina Interna de Animales Pequeños*. 4ª. El sevier. España. 33:468-505.
11. Day MJ. (2007). Immune system development in the dog and cat. *J Comp Pathol* 137:10-15.
12. De Cramer KG, Stylianides E, van Vuuren M. (2011). Efficacy of vaccination at 4 and 6 weeks in the control of canine parvovirus. *Vet Microbiol* 149:126-132.
13. Decaro N, Desario C, Campolo M, Elia G, Martella V, Ricci, D, Lorusso E, Buonavoglia C. (2005). Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. *J Vet Diagn Invest* 17:133-138.
14. Decaro N, Elia G, Campolo M, Desario C, Lucente MS, Bellacicco AL, Buonavoglia C. (2005a). New approaches for the molecular characterization of canine parvovirus type 2 strains. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 52:316-319.
15. Decaro N, Elia G, Martella V, Desario C, Campolo M, Di Trani L, Tarsitano E, Tempesta M, Buonavoglia C. (2005b). A real-time PCR assay for rapid detection and quantitation of canine parvovirus type 2 DNA in the feces of dogs. *Vet Microbiol* 105:19-28.
16. Decaro N, Martella V, Elia G, Desario C, Campolo M, Lorusso E, Colaianni M, Lorusso A, Buonavoglia C. (2007). Tissue distribution of the antigenic variant of canine parvovirus type 2 in dogs. *Vet Microbiol* 121:39-44.

17. Decaro N, Desario C, Elia G, Martella V, Mari V, Lavazza A, Nardi M, Buonavoglia C. (2008) Evidence for immunisation failure in vaccinated adult dogs infected with canine parvovirus type 2c. *New Microbiol* 31:125-130.
18. Desario C, Decaro N, Campolo M, Cavalli A, Cirone F, Elia G, Martella V, Lorusso E, Camero M, Buonavoglia C. (2005). Canine parvovirus infection: Which diagnostic test for virus? *J Virol Methods*. 126:179-185.
19. Elia G, Cavalli A, Cirone F, Lorusso E, Camero M, Buonavoglia D, Tempesta M. (2005). Antibody levels and protection to canine parvovirus type 2. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 52:320-322.
20. Elia G, Cavalli A, Desario C, Lorusso E, Lucente MS, Decaro N, Martella V, Buonavoglia C. (2007). Detection of infectious canine parvovirus type 2 by mRNA real-time RT-PCR. *J Virol Methods*. 146(1-2):202-208.
21. Eliopoulos N, Finger P, Nunes C, Castro C, Moreno J, Hubner S, 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 Virologia, V Encontro de Virologia do Mercosul. Gramado, RS, Brasil. p. 105-106.
22. Esfandiari J, Klingeborn B. (2000). A comparative study of a new rapid and one-step test for the detection of parvovirus in faeces from dogs, cats and mink. *J Vet Med B* 47:145-153.
23. Franco G, Puentes R. (2011). Detección y aislamiento de Parvovirus canino a partir de vacunas comerciales. 7mas Jornadas Técnicas de la Facultad de Veterinaria. Montevideo – Uruguay. p. 63.
24. Green E. G. (2006) *Infectious Diseases of the dog and cat*. 3^a. ed. St Louis, Saunders, 1387 p.
25. Guptill, L. (2011). Parvovirus canino. Country Oaks Veterinary Hospital. Philadelphia. Saunders. Disponible en: <http://countryoaksveterinary.ipower.com/parvovirus-in-dogs-spanish.pdf>. Fecha de consulta: 15/03/13.
26. Hirasawa T, Iwaki S, Watanabe K, Mikazuki K, Makino S, Hayashi Y. (1987). Outbreak of canine parvovirus infection and its elimination in a closed beagle dog colony. *Zentralbl Veterinarmed B*. 34:598-606.
27. Hoelzer K, Parrish C. (2010). The emergence of parvoviruses of carnivores. *Vet Res* 41:39.
28. Kalli, I, Leontides LS, Mylonakis ME, Adamama-Moraitou K, Rallis T, Koutinas AF. (2010) Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. *Res Vet Sci*. 89(2):174-8.
29. Lida, H., Fukuda S, Kawashima N, Yamazaki T, Aoki J, Tokita K, Morioka K, Takarada N, Soeda T. (1990). Effect of maternally derived antibody levels on antibody responses to canine parvovirus, canine distemper virus and infectious canine hepatitis virus after vaccinations in beagle puppies. *Jikken Dobutsu* 39:9-19.
30. Ling M, Norris JM, Kelman M, Ward MP. (2012). Risk factors for death from canine parvovirus-related disease in Australia. *Vet Microbiol*. 158(3-4):280-290.
31. Macartney L, McCandlish IA, Thompson H, Corwell HJ. (1984). Canine parvovirus enteritis 1: clinical, hematological and pathological features of experimental infection. *Vet Rec* 115:201-210.

32. Macartney L, Thompson H, McCandlish IA, Cornwell HJ. (1988). Canine parvovirus: interaction between passive immunity and virulent challenge. *Vet Rec* 122:573-576.
33. Martella V, Decaro N, Buonavoglia C. (2006). Evolution of CPV-2 and implicance for antigenic/genetic characterization. *Virus Genes* 33:11-13.
34. Martella V, Decaro N, Elia G, Buonavoglia C. (2005) Surveillance Activity for Canine Parvovirus in Italy. *J Vet Med.* 52:312-315.
35. Marulappa S, Kapil S. (2009). Simple Tests for Rapid Detection of Canine Parvovirus Antigen and Canine Parvovirus-Specific Antibodies. *Clin Vaccine Immunol* 16:127-131.
36. Moon HS, Lee SA, Lee SG, Choi R, Jeoung SY, Kim D, Hyun C. (2008). Comparison of the pathogenicity in three different Korean canine parvovirus 2 (CPV-2) isolates. *Vet Microbiol* 131:47-56.
37. Ohshima T, Hisaka M, Kawakami K, Kishi M, Tohya Y, Mochizuki M. (2008). Chronological analysis of canine parvovirus type 2 isolates in Japan. *J Vet Med Sci* 70:769-775.
38. Pérez R, Francia L, Romero V, Maya L, López I, Hernández M. (2007). First detection of canine parvovirus type 2c in South America. *Vet Microbiol* 124:147-152.
39. Pollock RV, Carmichael LE. (1982). Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: transfer, decline, and interference with vaccination. *JAVMA* 180:37-42.
40. Pratelli A, Cavalli A, Normanno G, De Palma MG, Pastorelli G, Martella V, Buonavoglia C. (2000). Immunization of pups with maternally derived antibodies to canine parvovirus (CPV) using a modified live variant (CPV-2b). *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 47:273-276.
41. Puentes R, Eliopulos N, Finger P, Castro C, Nunes C, Furtado A, Franco G, Hubner S. (2010). Detección viral en cachorros con diagnóstico presuntivo de Parvovirus canino (CPV). *Veterinaria (Montevideo)* 46:47-49.
42. Puentes, R. (2012) Parvovirosis Canina: situación actual y protección de las vacunas contra las nuevas variantes virales circulantes en la región. *Veterinaria (Montevideo)*, v.: 48(185), p.: 5 - 10.
43. Puentes R, Eliopulos N, Pérez R, Franco G, Sosa K, Bianchi P, Furtado A, Hubner S, Esteves P. (2012). Isolation and characterization of canine parvovirus type 2c (CPV-2c) from symptomatic puppies. *Brazilian J Microbiology*. p. 1005-1009. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v43n3/22.pdf>. Fecha de consulta: 15/12/12.
44. Rice JB, Winters KA, Krakowka S, Olsen RG. (1982). Comparison of systemic and local immunity in dogs with canine parvovirus gastroenteritis. *Infect Immun* 38:1003-1009.
45. Schmitz S, Coenen C, König M, Thiel H, Neiger R. (2009). Comparison of three rapid commercial Canine parvovirus antigen detection tests with electron microscopy and polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest* 21:344–345.
46. Siedek EM, Schmidt H, Sture GH, Raue R. (2011). Vaccination with canine parvovirus type 2 (CPV-2) protects against challenge with virulent CPV-2b and CPV-2c. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 124:58-64.
47. Spibey N, Greenwood NM, Sutton D, Chalmers WS, Tarpey I. (2008). Canine parvovirus type 2 vaccine protects against virulent challenge with type 2c virus. *Vet Microbiol* 128:48-55.

48. Strassheim ML, Gruenberg A, Veijalainen P, Sgro JY, Parrish CR. (1994). Two dominant neutralizing antigenic determinants of canine parvovirus are found on the threefold spike of the virus capsid. *Virology* 198:175-184.
49. Streck A, Souza C, Goncalves K, Zang L, Pinto L, Canal C. (2009). First detection of Canine parvovirus Type 2C in Brazil. *Braz J Microbiol* 40:465-469.
- Truyen U. (1999). Emergence and recent evolution of canine parvovirus. *Vet Microbiol* 69:47-50.
50. Url A, Schmidt P. (2005). Do canine parvoviruses affect canine neurons? An immunohistochemical study. *Res Vet Sci.* 79(1):57-9.

FIGURAS.



- Referencias:
- Estrato socioeconómico **inferior**.
 - Estrato socioeconómico **medio-inferior**.
 - Estrato socioeconómico **medio-superior**.
 - Estrato socioeconómico **superior**.

Figura 1. Mapa representativo de los distintos estratos socioeconómicos del Departamento de Montevideo según el Dpto. de Sociología de la Facultad de Ciencias, Universidad de la República Oriental del Uruguay.

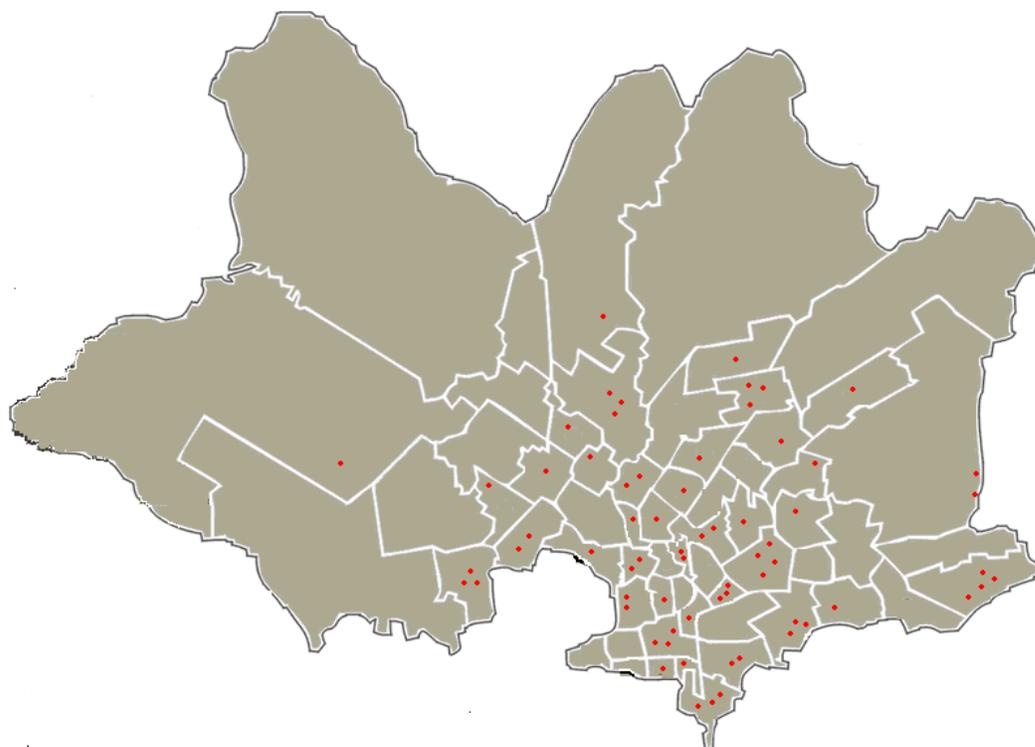
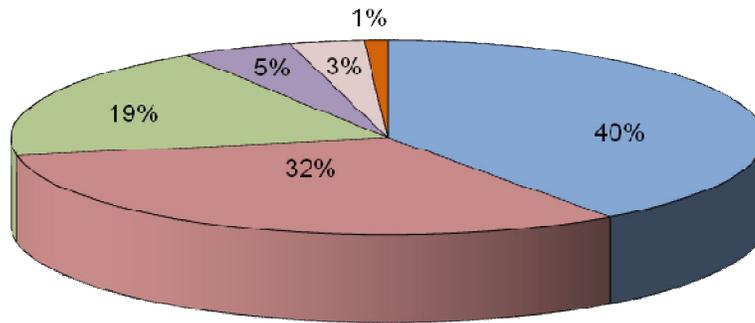


Figura 2. Mapa de la ciudad de Montevideo con los barrios delimitados según el Instituto Nacional de Estadística.

Los puntos rojos indican la ubicación de las clínicas veterinarias que fueron muestreadas. El muestreo incluyó 70 establecimientos, distribuidos por los siguientes barrios: Aguada, Aires Puros, Atahualpa, Barros Blancos, Bella Vista (Capurro), Belvedere, Bolívar, Brazo Oriental, Buceo, Carrasco, Cerro, Cerrito de la Victoria, Colón, Cordón, Goes, Jacinto Vera, La Blanqueada, La Teja, Las Acacias, Malvín, Manga, Maroñas, Pajas Blancas, Palermo, Parque Rodó, Paso de la Arena, Paso Molino, Peñarol, Pueblo Victoria, Pocitos, Punta Carretas, Punta Rieles, Reducto, Sayago, Tres Cruces, Unión, Villa Española.



- Parvovirus canino
- Distemper Canino
- Parasitarias
- Piodermias
- Cuadros respiratorios
- Otras causas

Figura 3. Distribución de las principales enfermedades diagnosticadas en el último año en las clínicas veterinarias encuestadas de la ciudad de Montevideo.

Como se observa en el gráfico, Parvovirus canino y Distemper canino representan más del 70% de los diagnósticos realizados, siendo CPV el de mayor proporción.

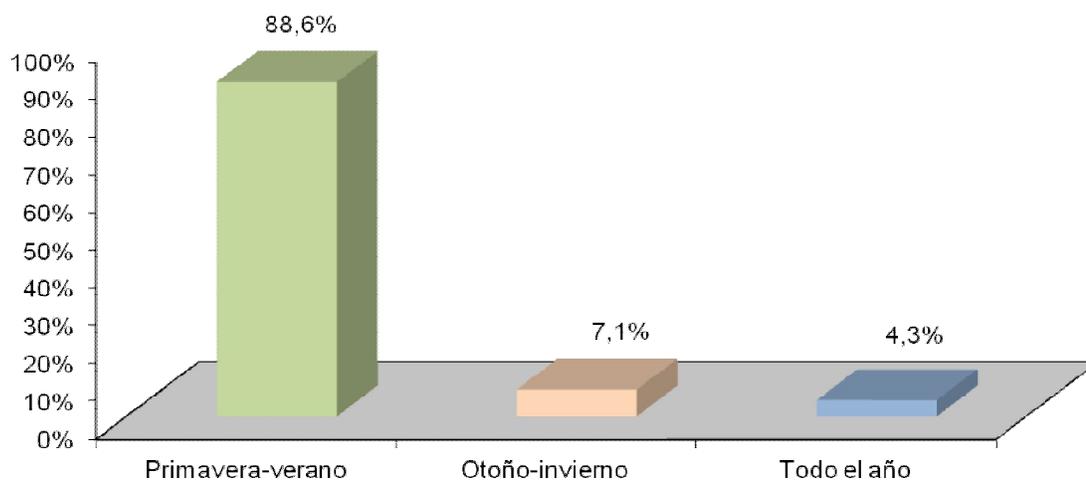


Figura 4. Estacionalidad de Parvovirus canino en las clínicas veterinarias encuestadas de la ciudad de Montevideo.

Como se puede observar, la mayor casuística de la enfermedad aparece en las estaciones de Primavera-Verano.

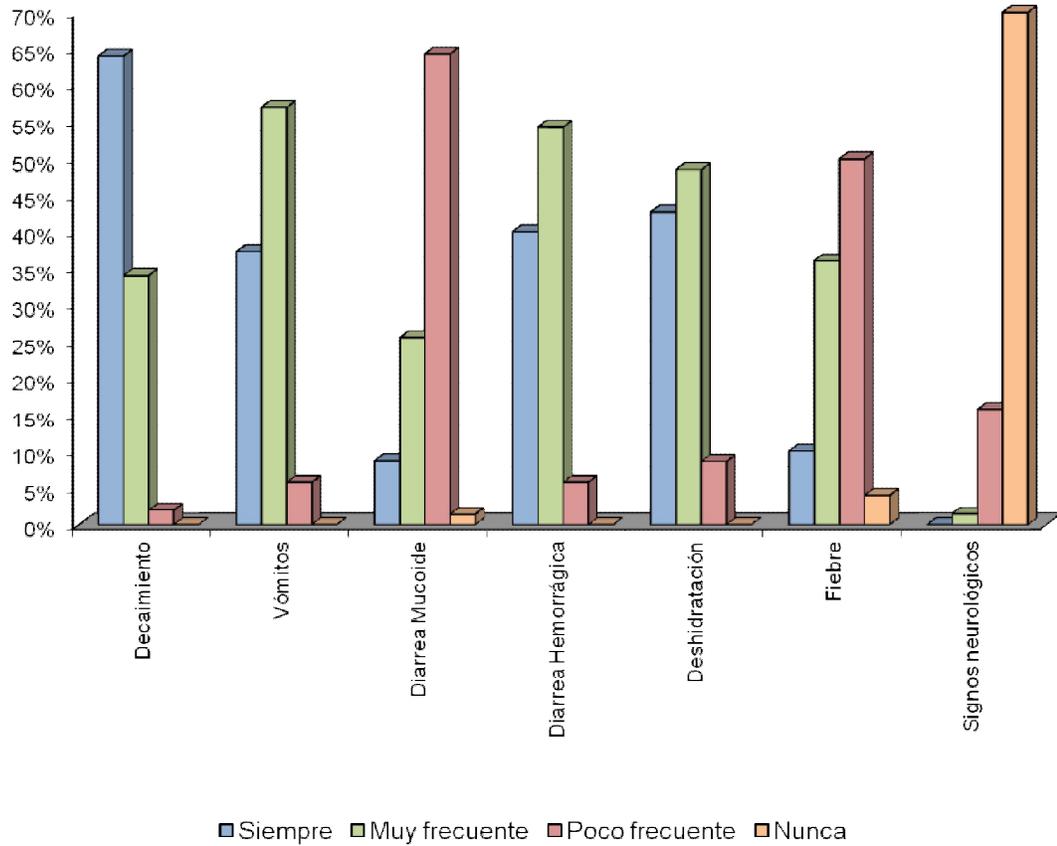


Figura 5. Principales síntomas observados por los veterinarios encuestados en los casos clínicos de CPV.

Decaimiento, diarrea hemorrágica y vómitos son los síntomas predominantes.

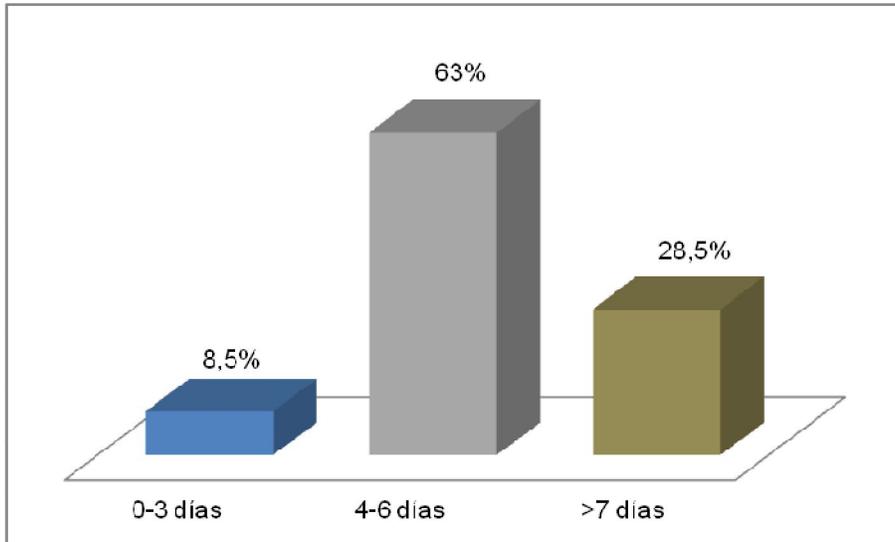


Figura 6. **Tiempo promedio del tratamiento realizado por los clínicos veterinarios.**

La mayoría de los casos tratados de Parvovirus canino, demoran entre 4 a 6 días hasta la recuperación o muerte del animal.

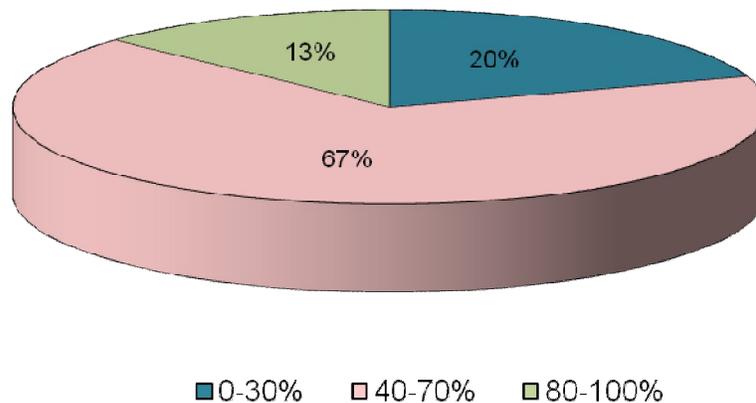


Figura 7. **Tasa de éxito en el tratamiento de los casos clínicos de Parvovirus canino.**

En la mayoría de las clínicas encuestadas (67%, correspondientes a 47 clínicas veterinarias) el tratamiento tuvo éxito, por ende la sobrevivencia del animal tratado se alcanzó en el 40 a 70% de los casos.

ANEXO

Encuesta Tesis Parvovirus Canino - Facultad de Veterinaria 2012-2013

Veterinaria:
Dirección:
Barrio:

Fecha:

1. Número de caninos atendidos por semana actualmente:

2. Principales enfermedad infecciosa diagnosticada en el último año:

A: _____

B: _____

2.1. ¿Utiliza alguna técnica de laboratorio para diagnosticarla?

Si Cual(es)? A: _____
No B: _____

3. ¿Observa alguna diferencia en cuanto al género del animal (macho o hembra) en la aparición de la Enfermedad?

Si En cual es más frecuente

machos
hembras

No

4. ¿Otras causas de gastroenteritis diagnosticadas?

1: _____

2: _____

3: _____

4.1. ¿Utiliza alguna técnica de laboratorio para diagnosticarla?

Si Cual(es) ? 1: _____
No 2: _____
3: _____

5. ¿Ha tenido casos de mortandad de camadas de cachorros en los primeros 10-15 días?

Si Diagnóstico(s): _____
No

6. Sintomatología de CPV: (0: nunca, 1: poco frecuente, 2: muy frecuente, 3: siempre)

Decaimiento	<input type="checkbox"/>	
Vómitos	<input type="checkbox"/>	
Diarrea mucoide	<input type="checkbox"/>	
Diarrea hemorrágica	<input type="checkbox"/>	
Deshidratación	<input type="checkbox"/>	
Fiebre (>39.5 °C)	<input type="checkbox"/>	
Síntomas neurológicos	<input type="checkbox"/>	Especificar: _____
Otros	<input type="checkbox"/>	Especificar: _____

7. Si comparamos la gravedad de los casos clínicos atendidos actualmente en relación a años anteriores, han sido:

Iguales	<input type="checkbox"/>
Más graves	<input type="checkbox"/>
Menos graves	<input type="checkbox"/>

Comentarios: _____

8. La casuística de CPV es su clínica, es mayor en:

Primavera	<input type="checkbox"/>
Verano	<input type="checkbox"/>
Otoño	<input type="checkbox"/>
Invierno	<input type="checkbox"/>

9. ¿Realiza diagnóstico de laboratorio en los casos de CPV (análisis clínicos y/o paraclínicos)?

Si	No	A veces
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Hemograma	<input type="checkbox"/>	
Inmunocromatografía.	<input type="checkbox"/>	Marca ? _____
ELISA	<input type="checkbox"/>	Marca ? _____
PCR	<input type="checkbox"/>	
Aislamiento	<input type="checkbox"/>	
HA	<input type="checkbox"/>	
Paraclínicos	<input type="checkbox"/>	Cual (es) ? : _____

10. ¿Realiza tratamiento médico en la clínica contra CPV?

si	no

Suero fisiológico	vía	i/v	s/c	i/p	oral	i/o
Suero ringer	vía	i/v	s/c	i/p	oral	i/o
Suero ringer lactato	vía	i/v	s/c	i/p	oral	i/o
Antibióticos	Especificar: _____					
Multivitámicos	Especificar: _____					
Antieméticos	Especificar: _____					
Suero hiperimmune	Especificar: _____					
Inmunoestimulantes	Especificar: _____					
Transfusión sangre						
Antivirales	Especificar: _____					
Otros	Especificar: _____					

11. ¿Cuál es la duración en promedio de los casos sobrevivientes tratados de CPV?:

0 a 3 días	
4 a 6 días	
7 o más días	

12. De los casos que son tratados con sintomatología de CPV, que porcentaje sobreviven y se recuperan de la enfermedad:

0 a 30%	
40 a 70%	
80 a 100%	

13. ¿Realiza vacunaciones?

Si	No

14. Plan de vacunación que utiliza:

	Edad	Vacuna utilizada
1º dosis		
2º dosis		
3º dosis		
4º dosis		
Revac.		

15. ¿Ha tenido casos clínicos de animales que habían sido vacunados recientemente (menos de 1 año)?

Si, la mayoría	
Algunos casos en cachorros	
Algunos casos en adultos	
Nunca he tenido	

15.1. En caso afirmativo, realizó algún diagnóstico de laboratorio de esos casos?

Si		Cuál? _____
No		

15.2. ¿Ha detectado alguna relación entre animales enfermos con vacunación previa y alguna marca de vacuna?

Si Cuál(es)? _____
No

15.3. Comentarios que desea realizar en relación a esta temática:
