

## PARVOVIROSIS CANINA Y ASPECTOS DE INMUNIZACIÓN

RICARDO FLORES CASTRO

*Laboratorios Litton de México, S. A. de C. V.*

I. Introducción.....	132
II. Agente etiológico.....	134
III. Animales susceptibles.....	136
IV. Transmisión y patogénesis.....	137
V. Signos clínicos.....	139
1. Forma entérica.....	139
2. Forma cardíaca.....	140
VI. Patología.....	141
1. Lesiones macroscópicas.....	141
2. Lesiones microscópicas.....	142
VII. Diagnóstico.....	143
1. Diagnóstico clínico.....	143
2. Diagnóstico diferencial.....	144
3. Diagnóstico de laboratorio.....	144
a) Hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación (HA-IHA).....	145
b) Neutralización con suero.....	146
c) Técnica de anticuerpos fluorescentes.....	146
d) Aislamiento del parvovirus.....	146
e) Microscopia electrónica.....	147
VIII. Tratamiento.....	147
IX. Respuesta inmunológica e inmunización.....	148

1. Respuesta a la infección .....	148
2. Inmunización.....	149
a) Vacunas inactivadas.....	150
b) Vacunas activas y modificadas del virus de la panleucopenia felina.....	151
c) Vacunas activas y atenuadas de parvovirus canina.....	151
d) Los anticuerpos maternos y su interferencia con la vacunación .....	152
Referencias.....	153.....

## I. Introducción

Las primeras evidencias sobre la existencia de la enteritis viral de los caninos datan de 1977 (22); sin embargo, el verdadero interés por la enfermedad surgió en 1978, cuando en los Estados Unidos se empezó a identificar el síndrome, caracterizado por vómito y diarrea hemorrágica severa, el cual tuvo una aparición súbita, causando un fuerte impacto económico en criaderos de perros, debido a las elevadas tasas de morbilidad y mortalidad (1, 2, 3, 4, 5 y 6). Las primeras investigaciones sugerían la asociación de partículas similares a parvovirus en las materias fecales de animales enfermos y lesiones intestinales muy parecidas a las que se producen en casos de panleucopenia felina (3, 4, 5). Durante los dos años que siguieron a la aparición de este síndrome, se realizaron numerosas investigaciones que demostraron que el agente causal era un parvovirus, indicando, además, que la enfermedad se había diseminado prácticamente en todos los estados de la Unión Americana (3, 5, 7, 8, 9, 10) ; poco tiempo después se identificaron brotes de enteritis parvoviral en perros de Canadá, Australia y algunos países de Europa (9, 11, 12, 13, 14, 15, 16). Una serie de estudios realizados en los Estados Unidos empleando muestras de suero de perros colectados en años anteriores a 1978, indicaron que en ninguno de los casos examinados había anticuerpos específicos contra parvovirus (17, 18); asimismo, en estudios retrospectivos hechos con sueros de perros que fueron colectados antes de 1978 en Japón, Australia y Nueva Zelandia, los resultados fueron similares (19, 20, 21). Por su parte, un grupo de investigadores realizó estudios similares en Bélgica, en los

que encontraron 3 sueros positivos, entre un grupo de 56 sueros obtenidos entre junio de 1976 y junio de 1977 (22).

En México Carmichael realizó un estudio en 1978 cuyos resultados no han sido publicados. En sus investigaciones encontró anticuerpos contra parvovirus canino en sueros de perros de una colonia de beagles, pertenecientes al Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias; unos meses más tarde, a principios de 1979, logró el aislamiento de parvovirus a partir de heces de beagles de la misma colonia, las cuales fueron estudiadas en el Instituto James A. Baker for Animal Health, en la ciudad de Ithaca, N. Y.

Es importante señalar que en dicha colonia no se habían observado manifestaciones clínicas de enteritis parvoviral. Los primeros brotes de esta enfermedad, en perros de la República Mexicana, se hicieron aparentes clínicamente en 1980. La infección se diseminó rápidamente en todo el país, causando numerosas bajas (23). Actualmente se tienen resultados de estudios realizados en el Valle de México y en el área metropolitana de Monterrey, N. L., que demuestran la presencia del parvovirus en heces de perros, estudiados con el método de hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación (24, 25).

Una de las grandes interrogantes que se han planteado simultáneamente con el surgimiento de esta, aparentemente nueva enfermedad de los perros, se refiere al origen del agente causal. La pregunta es: ¿se trata de un nuevo agente patógeno? Como ya se mencionó, los estudios retrospectivos indican que no existían evidencias de anticuerpos contra el virus antes de 1976 en Bélgica, o hasta 1978 en los Estados Unidos. Se ha demostrado que en este último, la aparición de anticuerpos coincide con la identificación de animales con manifestaciones del síndrome de enteritis hemorrágica (17, 18). Simultáneamente se identificó otro síndrome en cachorros, caracterizado por muerte súbita, asociada con miocarditis no supurativa (26, 27, 28, 29); poco tiempo después, se confirmó que el síndrome era causado por el mismo parvovirus responsable del síndrome gastroentérico. Lo anterior ha propiciado numerosas especulaciones que sugieren que este virus es producto de una mutación que se produjo en el virus de la panleucopenia felina, o bien en el virus de la enteritis viral

del mink (30); sin embargo, estas teorías no han podido confirmarse, por lo que persiste la interrogante respecto al origen de este agente etiológico.

## II. Agente etiológico

El agente causal de la gastroenteritis viral de los caninos es miembro de la familia *Parvoviridae*. Los parvovirus se han aislado a partir de numerosos huéspedes vertebrados, como son: bovinos, porcinos, perras, conejos, gansos, minks, gatos y posiblemente de hamsters y ratas (31). Estos agentes son isométricos, no poseen envoltura y contienen una cadena sencilla de ácido desoxirribonucleico (DNA) cuyo peso molecular es de 1.5 a 2.2 X 10<sup>6</sup> daltons; son virus resistentes al éter, el cloroformo, al calor y a los ácidos. Todos los parvovirus se replican en el núcleo de las células durante ciertas fases del ciclo de división de las mismas (31, 32). A diferencia de los virus adenoasociados, pertenecientes también a la familia *Parvoviridae*, los miembros del género parvovirus se conocen como virus autónomos, porque logran completar su ciclo de replicación sin la ayuda de virus auxiliares, aun cuando ello depende de algunos factores celulares que se expresan durante ciertas fases del ciclo de la célula infectada (33). Los miembros del género parvovirus se conocen desde 1950 y si bien se les encuentra frecuentemente asociados con tumores, no se ha podido demostrar que estos sean agentes oncogénicos (34). En realidad, su asociación con los tumores parece más bien obedecer al hecho de que los parvovirus requieren células en división para lograr su replicación, de manera que los tumores le ofrecen condiciones favorables para multiplicarse (34). Por esta misma razón, los fetos o los animales recién nacidos son sumamente susceptibles a estos virus.

No todas las células que se encuentran en división son afectadas en la misma proporción, pues existe un cierto tropismo hacia determinadas células, que al parecer esta sujeto a la existencia de receptores en la superficie de las membranas celulares, las cuales ofrecen al virus la capacidad de adsorberse a la célula e iniciar la infección (35).

En términos generales, se considera que las infecciones de animales adultos por miembros del género parvovirus son

comúnmente benignas; sin embargo, se ha demostrado que los animales adultos llegan a tornarse susceptibles como resultado de procedimientos que propician un incremento en la actividad mitótica en las células de los tejidos en donde ocurre la infección. Se conocen numerosos casos de enteritis causada por parvovirus en perros adultos (1, 4, 8, 11, 13, 15, 18).

En 1970, un equipo de investigadores encabezado por Binn, logró el primer aislamiento de un parvovirus de los perros. Esto ocurrió cuando cultivaron las muestras en hisopos rectales, de cuatro perros clínicamente sanos (36). Los autores denominaron al aislamiento con las siglas MVC, que en inglés corresponden a los términos *minute virus of canine* (virus diminuto de los caninos). Aunque en la actualidad no se ha determinado con exactitud el papel de este agente como causa de procesos patológicos, se considera que es un agente apatógeno y se sabe que es totalmente distinto al parvovirus canino responsable de los brotes de enteritis viral que surgieron en 1978 en los Estados Unidos; de manera que, en la actualidad se acepta que existen dos tipos de parvovirus canino, antígenicamente diferentes: uno de ellos apatógeno, conocido como MVC o parvovirus canino tipo 1, y otro patógeno, llamado también parvovirus canino tipo 2.

El parvovirus canino tipo 2 (PVC) resulta antigénicamente indistinguible del virus responsable de la panleucopenia felina (FPLV) (4, 17, 30, 37). Existe también una fuerte interacción antigénica entre los virus de la panleucopenia felina, el parvovirus canino y el virus de la enteritis de los minks (MEV), la cual se puede demostrar mediante pruebas de seroneutralización, de hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación (4, 17, 30, 38 y 39). La comparación entre parvovirus canino y el virus de la enteritis de los minks se ha realizado también mediante estudios del material genético de ambos (40 y 47). Esta correlación antigénica propició el establecimiento de estrategias de inmunización de perros, con vacunas preparadas con virus de la panleucopenia felina, poco tiempo después de que se identificó la enfermedad (38, 41, 42 y 43).

Una de las características importantes del parvovirus canino tipo 2, es su capacidad de aglutinar a los glóbulos rojos de porcinos y de monos; esta propiedad se aprovecha con fines de diagnóstico (17, 38).

El agente es sumamente resistente a los cambios bruscos de temperatura y pH, además de resistir a la acción de los desinfectantes comunes, por lo que las infecciones se diseminan con facilidad, persistiendo por tiempo prolongado en áreas contaminadas. Son sensibles a la acción del formol en concentración 1:30 (44).

#### **IV. Animales susceptibles**

La capacidad del parvovirus canino de causar enfermedad parece estar limitada a la especie canina. Existen publicaciones que fundamentan la enfermedad en el perro doméstico (*Canis familiaris*), coyotes (*Canis latrans*), algunas variedades de zorra (*Cerdocyon thous* y *Alopex lagopus*) incluyendo a la zorra azul, así como a ciertas variedades de lobos (*Chrysocyon brachyurus*) (45, 46, 48). Se ha demostrado que la inoculación parental del parvovirus canino en los gatos domésticos (*Felis domesticus*) puede dar origen a una infección, pero esta es autolimitante y no genera enfermedad (50). Se produce una ligera replicación viral en los órganos linfoides y el virus es eliminado en corto tiempo (49 y 50).

De igual manera, se sabe que al inocular el virus de la panleucopenia felina en perros, este logra replicarse solo en un grado limitado, sin llegar a establecer una verdadera infección, ni producir enfermedad.

Un grupo de investigadores publicó un artículo en el que sugería que el parvovirus canino era capaz de producir enfermedad en mapaches (*Procyon lotor*) (51); sin embargo, otros investigadores que realizaron estudios al respecto, han demostrado que el agente causal de tal enfermedad no era parvovirus canino, sino que se trataba de otro parvovirus propio de los mapaches que posee propiedades antigénicas que producen reacciones cruzadas con el parvovirus de los perros y el de la panleucopenia felina (52). Estos investigadores desafiaron mapaches con parvovirus canino sin lograr producir enfermedad o seroconversión.

En lo referente a la capacidad de parvovirus de los caninos de producir una infección en mustélidos, algunos trabajos publicados señalan que estos no son susceptibles a dicho virus. La exposición oral con materia fecal conteniendo parvovirus canino, no produjo una seroconversión, ni ocasionó ma-

nifestaciones clínicas en hurones (*Mustela luro*) (53). De igual manera, la exposición de los minks (*Mustela vison*) con parvovirus canino, aparentemente no origina una verdadera infección en estos animales (49).

Aun cuando no se cuente con información suficiente respecto a la susceptibilidad de los seres humanos, se cree que son resistentes a la infección con parvovirus canino. Los grupos de investigación encabezados por Carmichael y por Binn han realizado algunos estudios en humanos que en cierto modo han estado en contacto con el parvovirus patógeno, como son los técnicos de laboratorio o personas que han estado cerca de perros enfermos, sin encontrar en ellos evidencias de infección (37, 54).

#### IV, Transmisión y patogénesis

La principal vía de infección es oral. Se han publicado numerosos estudios que demuestran que la exposición por vía oral de perros susceptibles con materia fecal contaminada, o bien con filtrados de cultivos de tejido conteniendo parvovirus, da como resultado un cuadro clínico característico (10, 55, 56, 57). También se ha demostrado que el cuadro clínico puede reproducirse experimentalmente al inocular perros por vía oronasal, nasal, intramuscular, intravenosa y subcutánea (10, 38, 57, 58, 59, 60).

A pesar de la abundante información referente a la reproducción experimental de la enfermedad, aún no se conoce si la infección natural puede ocurrir por otras vías diferentes a la oral; se desconoce también la dosis mínima infecciosa.

Los animales infectados eliminan al virus en las heces, habiéndose demostrado que durante la fase aguda de la enfermedad se llegan a alcanzar títulos de hasta  $10^9$  viriones infecciosos por gramo de materia fecal (59). Es probable que durante la fase de viremia el virus sea eliminado también en algunas secreciones (66).

La eliminación del virus en las heces de perros infectados ocurre durante aproximadamente dos semanas, a partir del tercer día posterior a la infección experimental por vía oral; en algunos casos puede prolongarse la fase de eliminación hasta por 25 días después de que ha ocurrido la infección (55, 59 y 62), de manera que la amplia diseminación de la

enfermedad parece deberse más al hecho de que el virus es sumamente resistente a factores ambientales, que a la diseminación por perros crónicamente infectados (59, 61, 62). Un investigador demostró que el parvovirus mantuvo su capacidad infectante después de haber permanecido en muestras de materia fecal, durante 6 meses a temperatura ambiente (59). Además de la transmisión mediante materia fecal, existen evidencias de transmisión a través de fomites (63, 64 y 65),

El parvovirus canino posee una actividad linfocitotrópica, de manera que al entrar al organismo tiende a invadir tejido linfoide. La mayoría de los investigadores concuerdan al señalar que los sitios primarios de replicación son los tejidos linfoides de la región bucofaríngea y los ganglios linfáticos mesentéricos. Posteriormente la infección se generaliza a consecuencia de una fase de viremia. Es entonces cuando el virus esta presente en prácticamente todos los tejidos, incluyendo a las células del epitelio intestinal (56, 59, 60 y 66). Esta información resulta importante, puesto que pone de manifiesto que aun cuando la enfermedad causada por parvovirus en los perros es principalmente de carácter entérico y a pesar de que la infección ocurre por vía oral, el camino que sigue el virus para llegar a producir las lesiones en intestinos es a través de la circulación sanguínea.

De hecho, se han demostrado casos de viremia a partir de las 12 horas siguientes a la infección experimental por vía oral, mientras que la excreción del virus en las heces se inicia a las 72 horas posteriores a la exposición (55, 59, 66).

Los signos clínicos suelen aparecer poco tiempo después de que se ha iniciado la eliminación del virus en las heces y el título de este agente en materia fecal se va incrementando durante los 2 o 3 días siguientes a su aparición, lo que coincide con los días en que el animal presenta el cuadro clínico más evidente. A partir del octavo día la cantidad de virus presente en las heces empieza a declinar, desapareciendo a partir de la segunda semana posterior a la infección. Es factible que la ausencia de virus en materia fecal se deba a que para entonces ya han aparecido niveles suficientes de inmunoglobulinas específicas a nivel intestinal (67).

En lo que se refiere a la patogénesis de los signos del



cuadro clínico de la parvovirus, se ha puesto de manifiesto que la edad de los cachorros juega un papel importante. Linghaus y sus colaboradores (76) lograron reproducir la miocarditis al inocular cachorros *in útero* 5 días antes del nacimiento. Igualmente se han reproducido casos de miocarditis en cachorros experimentalmente expuestos a los 5 días de edad (66 y 77). En contraste, al intentar reproducir el cuadro cardíaco en cachorros de 4 semanas, utilizando un virus aislado del miocardio de un cachorro que murió con signos clínicos de miocarditis, sólo se logró reproducir un cuadro de enteritis parvoviral (10). Una probable explicación de lo anterior radica en el hecho de que el parvovirus depende en gran parte de la síntesis de DNA de la célula huésped, para lograr su replicación; las células del miocardio en cachorros neonatos se encuentran en franca proliferación, favoreciendo así la replicación del virus (10, 34, 35).

## V. Signos clínicos

La infección por parvovirus en los perros puede dar origen a dos formas clínicas diferentes, una de carácter entérico y una forma cardíaca o miocárdial.

La mortalidad es superior en la forma cardíaca. Durante la presencia entérica algunos animales llegan a recuperarse, aun sin tratamientos. Hay evidencias serológicas que sugieren la posibilidad de que en algunos perros la infección sea subclínica; en estos casos, los animales infectados representan un importante foco de infección.

### 1. *Forma entérica*

Esta forma clínica puede producirse en perros de cualquier edad. Los signos clínicos más comunes son: vómito, diarrea que en la mayoría de los casos es de color grisáceo y frecuentemente hemorrágica. Al inicio de la enfermedad hay depresión, anorexia y fiebre; la diarrea se hace aparente durante las 6 a 24 horas siguientes a la aparición de los primeros indicios de enfermedad. El vómito puede ocurrir simultáneamente con la presentación de la diarrea; sin embargo, en numerosos casos puede estar ausente; en algunos

animales se produce el reflejo del vómito pero este es improductivo.

La diarrea propicia un cuadro de deshidratación severa, la cual es más frecuente en los casos en que la diarrea es hemorrágica.

Aquellos animales en los que no hay hemorragia, tienen más probabilidad de sobrevivir que aquellos en los que se produce el cuadro hemorrágico, independientemente de que se aplique o no algún tipo de terapia. La muerte suele estar asociada a estados severos de deshidratación (1, 4, 30, 56, 56, 61, 63, 68 y 69).

Al realizar estudios hematológicos de los perros clínicamente afectados, es posible identificar cierto grado de leucopenia. Es importante realizar muestreos de sangre al mismo animal para hacer determinaciones del número de leucocitos en forma seriada. Es probable que en aquellos en los que la leucopenia este más marcada, será mayor la severidad de la infección (70). Durante la fase de recuperación se observa un incremento en la cuenta de leucocitos.

Un estudio realizado por Kramer y Col. (69), consistente en examinar los signos clínicos presentes en 40 casos en los que se confirmó la presencia del parvovirus como causa del padecimiento, reveló que el 100 % de los perros incluidos en el estudio, presentaron diarrea; pero solamente en un 55% de ellos había indicios de sangre en las heces; el 85 % sufrió vómitos, un 48% tuvo signos de presión y el 48% mostró anorexia; la fiebre se identificó en un 45% de los casos y en 43% del total estudiado había deshidratación. Los hemogramas revelaron leucopenia solo en 28 % de los casos.

## 2. *Forma cardiaca*

Esta forma de presentación de la parvovirus en perros se ha diagnosticado solamente en cachorros menores de 12 semanas de edad; sin embargo, puede darse en caso de que animales adultos que sobrevivieron a un proceso de miocarditis de origen parvoviral, sufran de fallas cardíacas a la edad de 5 meses o aun mayores (27, 71).

La forma cardiaca se produce con una tasa de mortalidad superior al 50% en camadas afectadas. Los miembros de la

camada que logran sobrevivir, son animales aparentemente normales; pero al practicar en ellos electrocardiogramas se puede identificar indicios de miocarditis (73, 74 y 75) la que por lo general ocurre aun en ausencia de signos de enteritis, o bien puede manifestarse 3 a 6 semanas después de que los animales se han recuperado del cuadro entérico (27, 28, 72, 73, 74). Los cachorros muestran postración y se duelen; a la auscultación se pueden identificar arritmias cardíacas, disnea e incluso edema pulmonar. El electrocardiograma confirma las anormalidades en el ritmo cardíaco (75).

Es común encontrar al cachorro muerto sin que se haya manifestado signo alguno de enfermedad. En ocasiones la muerte se produce pocas horas después de diagnosticar el padecimiento, independientemente de que se aplique o no algún tratamiento. De acuerdo a las experiencias publicadas por Carpenter y sus colaboradores (27) la muerte se produce a consecuencia de fallas en la conducción de impulsos nerviosos a nivel de miocardio.

## VI. Patología

### 1. *Lesiones macroscópicas*

La mayoría de los investigadores coinciden en señalar que las lesiones macroscópicas en casos de infección por parvovirus en perros son sumamente variables y poco específicas. Por lo general, se pueden observar alteraciones en el íleo y el yeyuno, los cuales podrán estar flácidos, congestionados o bien con hemorragias subserosas. El lumen del intestino suele estar vacío o bien contener ingesta acuosa. La superficie de la mucosa tiende a estar congestionada y libre de exudado. Por lo general el estómago, duodeno y colon no sufren alteraciones (40).

Los ganglios linfáticos mesentéricos se encuentran frecuentemente aumentados de tamaño y edematosos; durante las fases agudas es común la presencia de pequeñas hemorragias petequiales en la zona cortical de los ganglios (78). Algunos patólogos han identificado necrosis en la región cortical del timo y atrofia de este órgano en perros jóvenes (78 y 79). En la médula ósea se produce necrosis y por con-

siguiente se reduce notablemente la población de células precursoras y células maduras de las series mieloides y eritroides (91).

Las alteraciones macroscópicas observables en cachorros que mueren a consecuencia de la forma cardíaca se caracterizan por flacidez de las paredes del miocardio aunadas a dilatación de los ventrículos y aurículas; hay edema pulmonar y frecuentemente se identifica hidropericardio, hidrotorax y ascitis. En ocasiones se puede notar la presencia de estrías de aspecto pálido en el miocardio, particularmente en la zona ventricular (9, 27, 28, 72, 73, 74).

## *2. Lesiones microscópicas*

Los exámenes histopatológicos muestran que los cambios asociados a la infección por el parvovirus canino, en su forma entérica, se caracterizan por necrosis de las células epiteliales de las criptas, quedando lesionadas las glándulas intestinales. Las criptas pueden quedar totalmente descamadas. Es importante señalar la presencia de cuerpos de inclusión intranucleares, los cuales son de carácter eosinofílico (18, 79, 80). Conforme avanza la infección las vellosidades y la lámina propia se ven afectadas como consecuencia de la descamación del epitelio y la incapacidad de reemplazar las células epiteliales. Lo anterior propicia alteraciones en la capacidad de absorción intestinal, dando como resultado problemas de indigestión (78, 79, 80). Es frecuente que las vellosidades afectadas se recubran con células epiteliales inmaduras e incluso llegan a adherirse a vellosidades adyacentes (19, 66). Las deficiencias de absorción del epitelio intestinal, debido a la descamación, propicia cambios de permeabilidad y favorece la aparición de diarrea.

La deshidratación que ocurre a consecuencia de las alteraciones causadas por la parvovirus, ocasiona un desbalance electrolítico, el cual repercute desfavorablemente en la relación de sales de sodio y potasio, que puede ocasionar paro cardíaco y muerte. Otros factores que podrían estar involucrados como causas de la muerte son las endotoxinas de bacterias gram negativas que al pasar a través de las mucosas lesionadas pueden causar un choque endotóxico. Por último,

es probable que se produzcan septicemias de carácter secundario que pongan en riesgo la vida del animal (18, 66, 78,80).

La acción del parvovirus sobre órganos retículo endoteliales, se caracteriza por necrosis y reducción del número de linfocitos en los centros germinales de ganglios linfáticos mesentéricos, placas de peyer y en el bazo (18, 78, 79, 80).

Las lesiones microscópicas que se pueden apreciar en la forma cardíaca, se caracterizan por una inflamación no supurativa del miocardio, asociada a edema, pérdida de miofibrillas e infiltración linfocítica local (28, 29, 71, 73). Carpenter y sus colaboradores (27) publicaron que en esta forma de presentación de la enfermedad es común encontrar necrosis de las fibras musculares del miocardio, en las que se pueden identificar cuerpos de inclusión intranucleares. Algunos autores han confirmado tal aseveración, empleando la técnica de anticuerpos fluorescentes usando conjugados con suero anti-parvovirus canino (28). Otra lesión que suele presentarse en cachorros que sufren de un ataque de parvovirus es el engrosamiento de los septos alveolares.

Los estudios histopatológicos realizados por Carpenter y colaboradores (27) utilizando secciones de tejido pulmonar de 8 cachorros de una misma camada, los cuales murieron a una edad que fluctuó entre los 19 días y las 9 1/2 semanas, permitieron encontrar las siguientes lesiones: los septos, alveolares engrosados, congestión, edema, hemorragias leves y un elevado número de macrófagos alveolares. En uno de los cachorros se identificaron inclusiones intranucleares en células consideradas como macrófagos alveolares. Con base en lo anterior, los autores diagnosticaron neumonía intersticial viral y congestión pulmonar crónica pasiva.

## VII. Diagnóstico

### 1. *Diagnóstico clínico*

Es evidente que las manifestaciones clínicas de la infección por parvovirus, por ser tan variables, no siempre permiten establecer un diagnóstico confiable; por lo general, el diagnóstico clínico es de carácter presuntivo y permite al veterinario iniciar una terapia de sostén; sin embargo, exis-

ten otros procesos patológicos que podrían presentar un cuadro clínico parecido al de la enteritis por parvovirus, y que hay que tenerlos en cuenta para el diagnóstico diferencial. Entre los más importantes se incluyen las infecciones por coronavirus, moquillo canino, hepatitis, gastroenteritis hemorrágica, enteritis parasitarias e infecciones bacterianas,

## 2. *Diagnóstico diferencial*

Una de las infecciones virales que más se asemeja a la enteritis por parvovirus, es la enteritis causada por coronavirus; sin embargo, se considera en términos generales que esta última sigue un curso menos severo que la infección por parvovirus, siendo menores los porcentajes de mortalidad (37, 81).

En la mayoría de los casos los animales infectados con coronavirus se recuperan en un periodo de 6 a 9 días, aun sin tratamiento, y algunos llegan a morir. La diferenciación clínica entre ambos padecimientos puede resultar imposible.

La infección de cachorros con el virus de moquillo canino frecuentemente se asocia a un cuadro entérico, que se manifiesta por diarrea; sin embargo, suele incluir además signos de problemas respiratorios, nerviosos y exantemáticos que permiten la diferenciación con otras formas de enteritis viral (2, 3).

Las enteritis de origen parasitario deben considerarse en el diagnóstico diferencial, especialmente en cachorros jóvenes; la coccidiosis y la presencia de *Ancylostoma spp.* suelen producir enteritis severas. Otros nemátodos podrían también ocasionar cuadros parecidos a la enteritis por parvovirus. En ocasiones los cachorros pueden padecer simultáneamente enteritis por parvovirus y una parasitosis intestinal. El laboratorio es de gran utilidad para establecer el diagnóstico.

## 3. *Diagnóstico de laboratorio*

Son numerosos los métodos utilizados en los laboratorios para establecer el diagnóstico de parvovirus canina, A continuación se hace una breve descripción de cada uno de ellos:

a) *Hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación (HA-IHA)*

Como ya se ha mencionado, el parvovirus canino es capaz de aglutinar a los glóbulos rojos de cerdos, de manera que para determinar la presencia de parvovirus en heces se centrifugan suspensiones de materia fecal y con el sobrenadante se hacen diluciones; a cada dilución se añaden eritrocitos de cerdo. Con este procedimiento es posible establecer el título hemoaglutinante del virus de la muestra. Posteriormente se intenta inhibir tal reacción, repitiendo la prueba, pero añadiendo suero anti-parvovirus canino. Los resultados positivos a la IRA indican la presencia de parvovirus en las heces examinadas, Esta prueba es de utilidad durante la fase activa de eliminación del parvovirus en heces, lo que ocurre durante las dos semanas siguientes a la infección (17).

La prueba de inhibición de la hemoaglutinación puede emplearse también para identificar la presencia de anticuerpos en el suero de perros, utilizando un parvovirus conocido y glóbulos rojos de porcino. El título del suero será la mayor dilución del mismo capaz de inhibir la aglutinación de los eritrocitos porcinos, por parte del parvovirus (17),

Es probable encontrar anticuerpos específicos en perros que de alguna manera han estado en contacto previo con el virus, ya sea porque fueron vacunados, o tal vez por que sufrieron una infección a la cual sobrevivieron; así, pues, la demostración de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación en el suero de un perro, no constituye en si un diagnóstico definitivo. Sin embargo, los resultados podrían tener un valor más significativo si se demuestra que tales anticuerpos son predominantemente de la clase de los IgM. Para esto, basta someter alícuotas del suero en estudio a un tratamiento con el 2-mercaptoetanol. Este compuesto tiene la propiedad de inactivar a las IgM. El suero así tratado se examina con la prueba de inhibición de la hemoaglutinación. Simultáneamente se examina una alícuota del mismo suero, pero sin haber sido tratada y se comparan los resultados (85). Cuando en el suero predominan los anticuerpos de la clase IgM, los títulos de inhibición de la hemoaglutinación obtenidos con el suero tratado serán inferiores a los que se presentan con el suero sin tratar, Se sabe que las inmunoglobulinas de la

clase IgM son las primeras que se producen como resultado de la estimulación primaria del sistema inmunocompetente con un antígeno determinado y que esta clase de inmunoglobulina predomina durante las etapas iniciales de una infección activa (92). Cuando los títulos de anticuerpos son similares con el suero tratado y el suero sin tratar, se considera que los anticuerpos predominantes son de la clase IgG, que suelen aparecer cuando los títulos de IgM están declinando, por lo que en estos casos se considera que los anticuerpos son producto de contactos previos del perro con el antígeno viral.

*b) Neutralización con suero*

Esta prueba ofrece resultados equivalentes a las pruebas de HA e IHA; sin embargo, se requiere una mayor infraestructura para su realización, puesto que se utilizan cultivos de tejidos. Por otra parte, es una prueba que necesita varios días, por lo que no se usa como técnica de rutina (17).

*c) Técnica de anticuerpos fluorescentes*

Este procedimiento se utiliza en muchos laboratorios para determinar la posible presencia de partículas virales en tejidos de animales, o bien para establecer si existen anticuerpos específicos en el suero de un animal sospechoso (28). En este caso, se baña una laminilla preparada con tejido infectado con suero problema; después de incubar y lavar la preparación, se tiñe con anticuerpos fluorescentes específicos contra inmunoglobulina de perro. La persistencia del conjugado fluorescente en la preparación, indica la presencia de anticuerpos específicos contra parvovirus en el suero examinado (69). Dado que existe una enorme relación antigénica entre el parvovirus canino y el virus de la panleucopenia felina, se puede utilizar indistintamente conjugado preparado con uno u otro virus, con los mismos resultados. Se pueden identificar incluso anticuerpos IgG o IgM, utilizando conjugados específicos contra cada una de ellas.

*d) Aislamiento del parvovirus*

El diagnóstico definitivo de parvovirus se puede lograr



mediante el aislamiento del virus, utilizando para ello varias líneas celulares e incluso cultivos primarios de células de diferentes tejidos entre los que se encuentran: células de riñón de perro, células de pulmón de gato y células de pulmón de mink. El virus se puede aislar a partir de heces de perros infectados, durante las 2 semanas siguientes a la infección.

Se ha demostrado que durante la fase crítica de la enfermedad, el título del virus en heces llega hasta  $10^9$  dosis infectantes de cultivo de tejidos 50 %, por gramo de materia fecal (69). El aislamiento de parvovirus a partir de heces ha sido descrito por numerosos autores (1, 2, 4, 17, 30, 38), lo mismo que el aislamiento a partir de miocardio (10, 15, 19, 28). Este método de diagnóstico es sin duda el más preciso, pero resulta costoso y delicado, por lo que no se emplea rutinariamente.

#### e) *Microscopía electrónica*

La observación de suspensiones de materia fecal preparadas para examen mediante microscopía electrónica, permite identificar las partículas de virus cuando las mismas están siendo eliminadas en heces. Con este método es factible diferenciar con facilidad entre parvovirus, coronavirus y rotavirus. Además, si se recurre a la inmuno-electromicroscopía, es factible diferenciar entre el parvovirus canino tipo 1 (no patógeno), y el tipo 2, responsable de los padecimientos aquí descritos (3, 7, 17).

### **VIII. Tratamiento**

No existen productos que actúen específicamente en contra del parvovirus, por lo que el tratamiento se recomienda como medida auxiliar para contrarrestar los efectos de la deshidratación y evitar la aparición de infecciones secundarias causadas por bacterias. Tan pronto como se identifica el problema es necesario administrar una terapia a base de líquidos. La vía de administración más recomendable es intravenosa; la aplicación subcutánea puede ofrecer buenos resultados; y en comparación, la vía oral suele ser inadecuada ya que el vómito expulsa los líquidos administrados con fines

terapéuticos (82, 83), La terapia con soluciones electrolíticas debe ser prolongada,

La administración de antibióticos ha sido recomendada por numerosos autores para prevenir la presentación de infecciones secundarias, La ampicilina es el antibiótico de elección (84), Otros tratamientos incluyen gentamicina y cefalosporinas (69),

Es conveniente administrar alguno de los protectores de la mucosa intestinal, particularmente los elaborados a base de caolin, pectina y emulsiones de hidróxido de aluminio (69). Es recomendable vigilar que el tratamiento no favorezca la presentación del vómito, La forma cardíaca de la enfermedad suele ocurrir de manera súbita, por lo que no hay oportunidad de aplicar terapia alguna.

## **IX. Respuesta inmunológica e inmunización**

### *1. Respuesta a la infección*

En la mayoría de los perros aparecen en el suero los anticuerpos específicos contra el parvovirus canino, casi al mismo tiempo en que se hacen evidentes los signos clínicos; los títulos se incrementan rápidamente durante el curso de la enfermedad, permaneciendo a niveles elevados durante aproximadamente dos años (86), Al exponer perros susceptibles por vía oral y nasal, Pollok y Carmichael (85) observaron que los máximos niveles de anticuerpos se alcanzaron entre los días 3 y 6 siguientes a la exposición, coincidiendo esto con la aparición de los signos clínicos. Al tratar el suero de estos animales con 2 mercaptoetanol, se observó una considerable reducción en los títulos de anticuerpos de los sueros colectados durante las 3-4 semanas posteriores a la exposición, al examinarlos por medio de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación, lo que sugiere fuertemente que en ese periodo predominaron los anticuerpos de la clase IgM; en contraste, los sueros colectados después de la sexta semana, no sufrieron modificación respecto al título de inhibición de la hemoaglutinación, después del tratamiento con el 2-mercaptoetanol.

Lo anterior es importante, pues sugiere la necesidad de identificar anticuerpos IgM, lo que es indicativo de una infec-

ción activa. Esto se puede lograr fácilmente con el tratamiento del suero con 2-mercaptoetanol, o bien mediante el uso de la prueba de anticuerpos fluorescentes, utilizando conjugados anti-IgM y anti-IgG.

Se ha demostrado que cuando los perros se recuperan de una infección por parvovirus, son capaces de resistir al desafío experimental hasta 20 meses después (86); estos animales no muestran signos de enfermedad ni aumento de los títulos de anticuerpos, aun cuando son expuestos a virus patógeno. Un hallazgo importante observado por Pollock y Carmichael (26) fue que los perros desafiados 20 meses después de haberse recuperado de una infección, no eliminaron el virus en heces y sus títulos promedio de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación, durante ese periodo, fueron de 1 :1280. Esos autores consideran la posibilidad de que la mayoría de animales que logran recuperarse de una infección quedan inmunes de por vida. Este planteamiento aun no está confirmado.

Numerosos investigadores han demostrado que la presencia de anticuerpos séricos está íntimamente vinculada con la inmunidad, ante la exposición oral (41, 85, 86, 87).

Los perros con sueros negativos son uniformemente susceptibles a la infección. Un aspecto muy importante es el hecho de que la mayoría de perros que tienen títulos bajos de anticuerpos séricos, al ser desafiados experimentalmente, no desarrollan una enfermedad clínica; sin embargo, eliminan activamente el virus patógeno en las heces. Esto sugiere que los títulos bajos confieren protección contra la enfermedad, pero no evitan que se continúe diseminando el agente causal, lo que representa serios riesgos en áreas en donde se congregan numerosos perros, como criaderos y clínicas veterinarias.

## *2. Inmunización*

En la actualidad existen cuatro tipos diferentes de vacunas que se expenden comercialmente para la prevención de las infecciones causadas por el parvovirus: dos elaboradas con virus de la panleucopenia felina y dos en el parvovirus canino. En ambos casos se dispone de una vacuna viva, atenuada y una inactivada (muerta).

Como se ha mencionado previamente, el parvovirus canino y el virus de la panleucopenia felina están estrechamente relacionados desde el punto de vista antigénico, de manera que los anticuerpos que se producen en respuesta a la inmunización con el virus de origen felino, son capaces de neutralizar la acción del parvovirus de los perros; sin embargo, hay que señalar que existen ciertas diferencias entre los dos virus, tanto desde el punto de vista antigénico, como en lo referente al tipo de huésped en el que logran establecerse y replicarse. El virus de la panleucopenia felina no logra desarrollar una verdadera infección en perros, de la misma manera que el virus de los perros difícilmente sobrevive en los felinos (88).

a) *Vacunas inactivadas*

Es necesario que las vacunas inactivadas contengan la cantidad suficiente de partículas virales. Cuando se inmunizan cachorros seronegativos con vacunas inactivadas, adecuadamente estandarizadas, se logra inducir una inmunidad satisfactoria que persiste por lo menos durante 6 meses, independientemente de que se trate de una vacuna de origen felino o de parvovirus canino. En ambos casos, se recomienda la aplicación de dos dosis, con intervalo de 3 a 4 semanas entre ellas. En un experimento realizado en 1981, Pollock y Carmichael compararon la respuesta obtenida al vacunar perros con los dos diferentes tipos de inmunógenos inactivados (41). En ese estudio observaron que los mayores títulos se alcanzaron entre los 7 y 14 días siguientes a la segunda aplicación de la vacuna, en ambos casos; al poco tiempo los anticuerpos declinaron y se mantuvieron a niveles bajos por lo menos durante 20 semanas. Al desafiar por vía oronasal a los animales vacunados, con una cepa patógena de parvovirus canino, veinte semanas después de la vacunación, se encontró que ninguno de los animales presentó signos clínicos de la enfermedad, ni se produjo viremia; sin embargo, se demostró replicación del virus de desafío en el tracto intestinal y en el tejido linfoide asociado al intestino, de manera que los animales eliminaron virus en las heces durante un corto periodo; ello propicia la diseminación del virus patóge-

no, aun cuando la vacunación les confirió la capacidad de resistir al desafío experimental. Otra desventaja de las vacunas inactivadas radica en el hecho de que al aplicarse en animales que posean cierto nivel de anticuerpos séricos contra parvovirus canino, se produce una supresión total de la respuesta contra las vacunas inactivadas; esto suele ocurrir en cachorros con anticuerpos maternos (89).

*b) Vacunas activas, modificadas del virus de panleucopenia felina*

La efectividad de estas vacunas al ser aplicadas en perros está sujeta al número de virus vivos presentes en la dosis vacunal. Se ha demostrado que la vacunación con una dosis que contiene mil partículas virales más que la dosis usada en gatos, confiere una sólida y duradera inmunidad en perros; algunos casos llegan a mantener niveles elevados de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación, superiores a 1 :20, durante más de 13 meses después de la vacunación (86). Sin embargo, cuando se vacunan perros conteniendo un número similar de partículas virales a las utilizadas en las vacunas comerciales, para inmunizar gatos contra panleucopenia, la mayoría de los animales desarrollan una respuesta pobre. Esto se explica con base en que, el perro no es el huésped natural del virus de la panleucopenia, por lo que este agente difícilmente logra replicarse en los tejidos del animal vacunado.

En este tipo de vacuna se ha observado también un alto porcentaje de fallas en la vacunación atribuibles a la presencia de anticuerpos maternos, puesto que al igual que ocurre con las vacunas inactivadas, la presencia de anticuerpos séricos interfieren con la inmunización activa cuando se usa virus vivo de la panleucopenia felina (85, 86).

*c) Vacunas activas y atenuadas de parvovirus canino*

Las vacunas atenuadas de parvovirus derivan de cepas patógenas, que a través de numerosos pases en cultivos celulares, sufrieron una considerable reducción de su virulencia.

Algunos estudios realizados con cepas atenuadas demuestran que la aplicación de dosis masivas, no causan enfermedad en perros desde los 4 días y hasta los 7 años de edad, ni en hembras gestantes. Es común que la cepa vacunal sea eliminada en las heces de los animales vacunados; pero esto ocurre por periodos cortos y con títulos de virus muy bajos.

Se ha demostrado que la aplicación de vacunas de origen canino, usando virus vivo modificado, induce una inmunidad de por lo menos dos años. Es posible identificar anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación 3 ó 4 días después de aplicar este tipo de vacunas, aun cuando el número de partículas virales contenidas en la dosis vacunal resulte bajo; lo anterior se explica por el hecho de que el perro es el huésped natural de este virus, por lo que, a pesar de su atenuación, logra una cierta replicación en las células del animal vacunado, estimulando así una mejor respuesta inmunológica. No se han observado indicios de una posible reversión a la virulencia en ninguna de las cepas que se utilizan para elaborar vacunas vivas con fines comerciales. Por otra parte, no hay evidencias de que la vacunación origine un proceso de inmunosupresión. La eficacia de las vacunas vivas de origen canino, para prevenir la infección natural del parvovirus en más de 6000 perros estudiados por Carmichael y sus colaboradores (90), fue mayor al 98% en animales que eran seronegativos al momento de la vacunación; sin embargo, sólo alcanzó 50% de efectividad cuando se vacunaron animales con cierto grado de anticuerpos maternos (títulos de 1:10 a 1:20). Estos autores concluyeron que la inmunidad activa que se obtiene con vacunas vivas atenuadas de parvovirus canino en cachorros, se produce con mayor rapidez que cuando se utiliza otro tipo de vacunas contra esta enfermedad.

*d) Los anticuerpos maternos y su interferencia con la vacunación*

Durante la ingestión del calostro, los cachorros nacidos de perras inmunes contra parvovirus ingieren cantidades suficientes de anticuerpos específicos contra este agente, de manera que llegan a tener títulos de anticuerpos séricos casi equivalentes a los de la madre.

Esta inmunidad pasiva tiene una duración que varia en-

tre 5 y 12 semanas, de manera que los cachorros se tornan susceptibles conforme esta inmunidad va desapareciendo. Existen evidencias en el sentido de que al haber títulos de anticuerpos maternos inferiores a 1:80 en la prueba de inhibición de la hemoaglutinación, los cachorros pueden sufrir una infección por parvovirus (89).

En esta fase, cuando los anticuerpos maternos son insuficientes para prevenir la infección, los cachorros entran en lo que se denomina "periodo crítico", puesto que la presencia de anticuerpos maternos, si bien no protege contra la enfermedad, sí es capaz de bloquear la inmunización activa que se pretende lograr mediante la vacunación. Este "periodo crítico" puede durar entre 2 y 4 semanas, dependiendo de los niveles de anticuerpos maternos existentes en el cachorro. La mayoría de los casos de fallas vacunales en cachorros tienen su origen y es consecuencia de la interferencia causada por los anticuerpos maternos (85, 89).

Lo anterior crea un conflicto respecto a la edad a la que se recomienda vacunar a los cachorros. No existe un dato definitivo; se sabe que la duración de la inmunidad materna en los cachorros esta estrechamente vinculada con los niveles de anticuerpos de la madre, de manera que en hembras con bajos títulos, el "periodo crítico" de los cachorros ocurre más temprano; lo contrario se produce en casos de cachorros procedentes de hembras con niveles elevados de anticuerpos. Un criterio usado en términos generales generalmente sugiere que en aquellos casos en los que los cachorros procedan de perras no vacunadas, la inmunización debe realizarse entre la octava y la décima semanas de edad, mientras que los cachorros procedentes de hembras vacunadas deben inmunizarse a partir de la doceava semana. Es recomendable reducir al mínimo el contacto de cachorros no vacunados con posibles fuentes de infección.

#### REFERENCIAS

1. Appel, M. J. G., Cooper, B. J., Greisen, H. and Carmichael, L. E.: Status report: Canine viral enteritis. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 173:1516-1518, 1978.
2. Appel, M. J. G.: Canine parvovirus infection-An emergin disease.

- Laboratory Report* 9-1, March 1979; Baker Institute for Animal Health, Ithaca, N. y., 1979.
3. Appel, M. J. G., Cooper, B. J., Greisen, H. and Carmichael, L. E.: Canine viral enteritis. I. Status report on corona-and-parvovirus like viral enteritides. *Cornell Vet.* 69:123-133, 1979.
  4. Black, J. W., Holscher, M. A., Powell, H. S. and Byerly, C. S.: Parvoviral enteritis and panleukopenia in dogs. *Vet. Med. /Small Anim. Clinician.* 74 :47-50, 1979.
  5. Eugster, A. and Naim, C.: Diarrhea in puppies: Parvovirus like particles demonstrated in their feces. *Southwest Vet.* 30 (1): 59-60, 1977.
  6. Kelly, W. R.: An enteric disease of dogs resembling feline panleukopenia. *Aust. Vet. J.* 54:593-597, 1978.
  7. Burtonboy, G., Coignoul, F., Delferriere, N. and Pastoret, P. P.: Canine hemorrhagic enteritis: Detection of viral particles by electronmicroscopy. *Arch. Virol.* 61:1-11, 1979.
  8. Helfer-Baker, C., Evelmann, J. F. and McKeirnan, A. J.: Serologic studies on the incidence of canine viral enteritis. *Canine Praet.* 7 :37-42, 1980.
  9. Robinson, W. F., Wilcox, G. E. and Flower, R. L. P.: Evidence for a parvovirus as the etiologic agent in myocarditis of puppies. *Aust. Vet. J.* 55:294-295, 1979.
  10. Robinson, W. F., Wilcox, G. E. and Flower, R. L. P.: Canine parvoviral disease: Experimental reproduction of the enteric form with a parvovirus isolated from a case of myocarditis. *Vet. Pathol.* 17 :589-599, 1980.
  11. Gagnon, A. N. and Povey, R. C.: A possible parvovirus associated with an epidemic gastroenteritis of dogs in Canada. *Vet. Rec.* 104:263-264, 1979.
  12. Burtonboy, G., Coignoul, F. et Pastoret, P. P.: L'enterite a parvovirus du chien. *Ann. Med. Vet.* 123:123-126, 1979.
  13. Kraft, W., Graf, R. and Schuwars, H.: Parvovirus-enteritis des Hundes-Clinik, Diagnose, Differential diagnose. *Therapie. Kleintierpraxis.* 25 :81-90, 1980.
  14. McCandlish, I. A. P., Thompson, H. and Corwell, H. J. C.: Isolation of a parvovirus from dogs, in Britain. *Vet. Rec.* 105:167-168, 1979.
  15. Pastoret, P. P., Schwars, A., Burtonboy, G. et Coignoul, F.: Les diarrhees d'origine virale chez le chien. *Ann. Med. Vet.* 124:89-101, 1980.
  16. Touratier, L.: Le parvovirus canine en France et dans le monde. *Bull. Soc. Vet. Praet.* 64:263-296, 1980.
  17. Carmichael, L. E., Joubert, J. C. and Pollock, R. V. H.: Hemagglutination by canine parvovirus: Serologic studies and diagnostic applications. *Am. J. Vet. Res.* 41:784-791, 1980.
  18. Meunier, P. C., Glickman, L. T., Appel, M. J. G. and Shin, S.: Canine parvovirus in a commercial Kennel: Epidemiologic and pathologic findings. *Cornell Vet.* 71:96-110, 1981.



19. Azetaka, M., Kirasawa, T., Konishi, S. and Ogata, M.: Studies on canine parvovirus isolation, experimental infection and serologic survey. *Jpn. J. Vet. Sci* 43:243-255, 1981.
20. Smith, J. R., Framer, T. S. and Johnson, R. II.: Serological observations on the epidemiology of parvovirus enteritis of dogs. *Aust. Vet. J.* 56:149-150, 1980.
21. Jones, B. R, Robinson, A. J., Fray, L. M. and Lee, E. A.: A longitudinal serological survey of Parvovirus infection in dogs. *New Zealand Vet. J.* 30:19-20, 1982.
22. Schevers, A., Pastoret, P. P., Burtonboy, G. et Thiry, E.: Frequence en Belgique de l'infection a parvovirus chez le chien, avant et apres l'observation des premiers cas cliniques. *Ann. Med. Vet.* 123:561-566, 1979.
23. Stephana, H. A.: Epizootia de enteritis viral canina en México: Posible infección por parvovirus. *Veterinaria (México)*, UNAM, XI, 4 :141-148, 1980.
24. Pedraza, M. E., Gallegos, S. M. y Flores, C. R.: Estudio clínico e inmunológico sobre parvovirus canino en México. *Memorias XV Reunión Anual del INIP, México, D. F.*, 465, 1981.
25. Rivas, L. O. y Flores, C. R.: Demostración del parvovirus en perros de la Cd. de Monterrey. *Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaría 1985.* INIP-UNAM, México, D. F. 93, 1985.
26. Van Rensbm'g, L., Botha, W., Lange, A. L. and Williams, M. C.: Parvovirus as a cause of enteritis and myocarditis in puppies. *J. South Africa Vet. Assn.* 50:249-253, 1979.
27. Carpenter, J. L., Roberts, R. M., Harpster, N. K. and King, N. W.: Intestinal and cardiopulmonary forms of parvovirus infection in a litter of pups, *J, Ant. Vet. Med, Assn.* 176:1260-1273, 1980.
28. Hayes, M. A., Russell, R. G. and Babiuk, L. A.: Sudden death in young does with myocarditis caused by parvovirus. *J. Am. Vet Assn*, 174:1197-1203, 1979.
29. Vefferies, A. R. and Blakemore, W F.: Myocarditis and enteritis in puppies associated with parvovirus. *Vet. Rec.* 104:221-223, 1979.
30. Johnson, R. and Spradbrow, P.: Isolation from dogs with severe enteritis of a parvovirus related to feline panleukopenia virus. *Aust, Vet. J.* 55:151-156, 1979,
31. Bachmann, P. A., Hoggan, M. D. and Melnick, J. L.: *Parvoviridae.* *Intervirology.* 5:83-92, 1975.
32. Bachmann, P. A., Hoggan, M. D. and Kurstak, E.: *Parvoviridae.* *Intervirology.* 11 :248-254, 1979.
33. Rhode, S. L.: Replication process of the parvovirus H-1. *J. Virol,* 11 :856-861, 1073,
34. Tattersall, P. and Ward, D.: The Parvoviruses-An introduction, in Ward, D. and Tattersall, P. (eds): *Replication of mammalian parvoviruses.* Cold Spring Harbor, N. Y., Cold Spring Harbor Laboratory. pp. 3-12, 1978.
35. Siegl, G.: The parvoviruses. In Gard, S., Hallaver, C. (eds): *Virology Monographs*, Vol. 15. New York, Springer-Verlag. 1976.

36. Binn, L. N., Lazar, E. C., Eddy, G. A. and Kajima, M.: Recovery and characterization of a minute virus of canines. *Infect. Immun.* 1:503-508, 1970.
37. Carmichael, L. E. and Binn, L. N.: New enteric viruses in the dog. *Adv. Vet. Sci. Compo Med.* 25:1-37, 1981.
38. Appel, M. J. G., Scott, P. W. and Carmichael, L. E.: Isolation and immunization studies of a canine parvo-like virus from dogs with hemorrhagic enteritis. *Vet. Rec.* 105:156-159, 1970.
39. Flower, R. L. P., Wilcox, G. E. and Robinson, W. F.: Antigenic differences between canine parvovirus and feline panleukopenia virus. *Vet. Rec.* 107:254-256, 1980.
40. Me Master, G., Tratschin, J. D. and Siegl, G.: Comparison of canine parvovirus with mink enteritis virus by restriction site mapping. *J. virol* 38:368-371, 1981.
41. Pollock, R. V. and Carmichael, L. E.: Dog response to inactivated canine parvovirus and feline panleucopenia virus vaccines. *Cornell Vet.* 72: 16-35, 1982.
42. Moraillon, A.: Canine parvovirus: Safety and efficacy of attenuated feline panleukopenia virus. *Vet. Rec.* 107:512-515, 1980.
43. Chapek, M. L., Mc Calukhry, L. E. and Wilkins, L. M.: Efficacy and safety of an inactivated feline parvovirus vaccine against canine parvovirus infection. *Med. Vet. Pract.* 00:261-263, 1980.
44. Scott, F.: Viricidal disinfectants and the feline viruses. *Am. J. Vet. Re.* 41:410-414, 1980.
45. Mann, P. C., Bush, M. and Appel, M. J. G.: Canine parvovirus infection in south american can ids. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 175: 779-783, 1980.
46. Fletcher, K. C., Eugster, E. K., Schidt, R. E. and Hubbard, G. B.: Parvovirus infection in maned wolves. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 175:897-900,1979.
47. Parrish, C. R. and Carmichael. L. E.: Antigenic structure and variation of caninc parvovirus type 2, feline panleukopenia virus and mink enteritis virus. *Virology.* 129 :401-414, 1983.
48. Evermann, J. F., Foreyt, W. and Maag-Miller, L.: Acute hemorrhagic enteritis associated with canine coronavirus and parvovirus infections in a captive coyote population. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 177:784-786, 1980.
49. Parrish, C. R.: Canine parvovirus and feline panleukopenia virus: Structure and function. *Ph. D. thesis*, Cornell University, Ithaca, N. Y., 1984.
50. Osteahaus, A. D. M. Steenis G. and Van de Kreek, P.: Isolation of a virus closely related to panleukopenia virus from dogs with diarrhea. *Zentralbl. Veterinarmed (B)* 27:11-21, 1980.
51. Nettles, V. F., Pcarson, J. E., Gustafson, G. A. and Blue, J. L.: Parvovirus infection in translocated raccoons. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 177:787-789, 1980.
52. Appel, M. J. G. and Panish, C. R.: Raccoons are not susceptible to canine parvovirus. *J. Am.. Vet. Med. Assn.* 181:489-492, 1982.

53. Lecure, F., Guelfi, J. F. et Ragnier, A.: La parvovirose du chien. *Rev. Med. Vet.* 131:7-12, 1980.
54. Binn, L. N., Marchwicki, R. H., Eckermann, E. H. and Fritz, T. E.: Viral antibody studies of laboratory dogs with diarrheal disease. *Am. J. Vet. Res.* 42:1665-1667, 1981.
55. Cannan, S. and Pavey, C.: Successful experimental challenge of dogs with canine parvovirus-2. *Can. J. Comp. Med.* 46 :33-38, 1982.
56. O'Sullivan, G., Durham, P. J., Smith, J. R. and Campbell, R. S.: Experimentally induced severe canine parvoviral enteritis. *Aust. Vet. J.* 61:1-4, 1984.
57. Eugster, A. K., Bendele, R. A. and Jones, L. P.: Parvovirus infections in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 173:1340-1341, 1978.
58. Hitchcock, L. M. and Scarnell, J.: Canine parvovirus isolated in U. K., *Vet. Rec.* 105:172-175, 1979.
59. Pollock, R. V.: Experimental canine parvovirus infection in dogs. *Cornell Vet.* 72:103-119, 1982.
60. Mc Ardagh, J. P., Eustis, S. L. and Nelson, D. T.: Experimental infection of conventional dogs with canine parvovirus. *Am. J. Vet. Res.* 43:693-696, 1982.
61. Pollock, R. and Carmichael, L. E.: Canine viral enteritis: Recent developments. *Mod. Vet. Pract.* 60:375-380, 1979.
62. Carmichael, L. E., Joubert, J. C. and Pollock, R. V.: A modified live canine parvovirus strain with novel plaque characteristics. I. Viral attenuation and dog response. *Cornell Vet.* 71:408-427, 1981.
63. Harcourt, R. A., Spurling, N. W. and Pick, C. H.: Parvovirus infection in a beagle colony. *J. Small. Anim. Pract.* 21:293-302, 1980.
64. Studdert, M. J., Oda, C., Reigl, C. A. and Roston, R. P.: Aspects of the pathogenesis and epidemiology of canine parvovirus. *Aust. Vet. J.* 60:107-200, 1983.
65. Menikel, B. S., Hahn, F. F., and Hanika Rebar, C.: Acute Parvoviral Enteritis in a closed beagle dog colony, *Lab. Anim. Sci.*, BO :874-878, 1980.
66. Meunier, P. C.: The pathogenesis of canine parvovirus infection. *Ph.D. Thesis, Cornell University. Ithaca, N. Y., 1983.*
67. Rice, J. B., Winters, K. A., Krakowka, S. and Olsen, R. G.: Comparison of systemic and local immunity in dogs with canine parvovirus gastroenteritis. *Infect. Immun.* 38 :1003-1009, 1983.
68. Fritz, T.: Canine enteritis caused by a parvovirus. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 174:5-6, 1979.
69. Kramer, J. M., Meunier, P. C. and Pollock, R. V.: Canine parvovirus: Up date. *Vet. Med./Small Anim. Clinician.* 75:1541-1555, 1980.
70. Jacobs, R. M., Weiser, M. G., Hall, R. L. and Kowalski, J. J.: Clinicopathologic features of canine parvoviral enteritis. *J. Am. Anim. Health Assn.* 16:809-814, 1980.

71. Jezyk, P. F., Haskins, M. E. and Jones, C. L.: Myocarditis of probable viral origin in pups of weaning age. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 174:1204-1207, 1979.
72. Lenghaus, C. and Studdert, M. J.: Generalized parvovirus disease in pups. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 181 :41-45, 1982.
73. Kelly, W.: Diffuse subacute myocarditis of possible viral etiology: A cause of sudden death in pups. *Aust. Vet. J.* 55:36-37, 1979.
74. Robinson, W. F., Huxtable, C. R. and Pass, D. A.: Canine parvoviral myocarditis: A morphologic description of the natural disease. *Vet. Pathol.* 15:282-293, 1980.
75. Robinson, W. F., Huxtable, C. R., Pass, D. A. and Howell, J. McH.: Clinical and electrocardiographic findings in suspected viral myocarditis of pups. *Aust. Vet. J.* 55:351-355, 1979.
76. Lenghaus, C., Studdert, M. J. and Finnie, J. W.: Acute and chronic canine parvovirus myocarditis following intrauterine infection. *Aust. Vet. J.* 56:465-468, 1980.
77. Mulvey, J. J., Bech-Nielsen, S. and Haskins, M. E.: Myocarditis induced by parvoviral infection in weanling pups in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 177:695-698, 1980.
78. Nelson, D. T., Eustis, S. L., McAdaragh, J. P. and Stotz, I.: Lesions of spontaneous canine viral enteritis. *Vet. Pathol.* 16: 680-686, 1980.
79. Cooper, B.: Canine viral enteritis II. Morphologic lesions in naturally occurring parvovirus infection. *Cornell Vet.* 69:134-144, 1979.
80. Pletcher, J. M., Toft, J. D., Frey, R. M. and Casey, H. W.: Histopathologic evidence for parvovirus in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 175:825-828, 1979.
81. Carmichael, L. E.: Infectious canine enteritis caused by a coronalike virus: Current status. Baker Institute for Animal Health, Cornell University, *Lab. Report, series No. 2, No. 9*, July, 1978.
82. Troutt, H.: Fluid and electrolyte therapy for diarrhea. *J. Am. Anim. Health Assn.* 8:214-223, 1972.
83. Finco, D.: Fluid therapy for profuse vomiting. *J. Am. Anim. Health Assn.* 8:200-205, 1972.
84. Woods, C. B., Pollock, R. V. and Carmichael, L. E.: Canine parvoviral enteritis. *J. Am. Anim. Health Assn.* 16:171-179, 1980.
85. Pollock, R. V. and Carmichael, L. E.: Canine viral enteritis. Symposium on gastroenterology. *Vet. Clinics of North America; Small Animal Practice.* 13 (3): 551-566, 1983.
86. Pollock, R. V. and Carmichael, L. E.: Use of modified live feline panleukopenia virus vaccine to immunize dogs against canine parvovirus. *Am. J. Vet. Res.* 44:169-173, 1983.
87. Eugster, A. K.: Studies on canine parvovirus infection: Development of an inactivated vaccine. *Am. J. Vet. Res.* 36:296-302, 1980.
88. Parris, C., Carmichael, L. E. and Antczak, D. F.: Antigenic relationships between canine parvovirus-2, feline panleukopenia

- virus, and mink enteritis virus using conventional antisera and monoclonal antibodies. *A ?-ch. Virol.* 72: 267-273, 1982.
89. Pollock, R. V. and Carmichael, L. E.: Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: Transfer, decline, and interference with vaccination. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 180:37-42, 1982.
  90. Carmichael, L. E., Joubert, J. C. and Pollock, R. V.: A modified live canine parvovirus vaccine: II. Immune response. *Cornell Vet.* 73: 13-19, 1983.
  91. Boosinger, T. R., Rebar, A. H., De Nicola, D. B. and Boon, G. D.: Bone marrow alterations associated with canine parvoviral enteritis. *Vet. Pathol.* 19:558-561, 1982.
  92. Raitt, I.: *Essential Immunology*, 4th Edn. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1980.