



Diagnóstico de moquillo canino con la prueba Dot-ELISA*

REVISIÓN DE
LITERATURA

Sergio Eduardo Linares-Villalba¹, Adriana María Correa-Salgado¹,
Luis Harby Velásquez-Garzón¹

¹Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.

sergio.linares@ucaldas.edu.co

(Recibido: abril 15, 2010; aprobado: junio 20, 2010)

RESUMEN: En la actualidad, los médicos veterinarios generalmente se basan en la presentación clínica del virus del moquillo en caninos para el diagnóstico de la enfermedad; como se muestra en el presente estudio, la existencia del virus no corresponde únicamente a la sintomatología comúnmente asociada. El conocimiento de la seroprevalencia de moquillo canino, mediante el diagnóstico con la prueba serológica InmunoComb® IgM (Dot-ELISA), puede poner en evidencia el impacto que tiene la enfermedad en la población canina atendida y afectada con sintomatología compatible. No todos los pacientes que presentan sintomatología asociada con el virus de distemper canino son positivos a la prueba. Para demostrar, se tomó como población 84 caninos que ingresaron al Hospital Veterinario “Diego Villegas Toro” de la Universidad de Caldas durante 2,5 años, con sintomatología nerviosa, digestiva, respiratoria, ocular o cutánea que hacen parte de los sistemas afectados por el virus. Aunque dichos pacientes no presentaron plan de vacunación, no todos mostraron resultados positivos durante la prueba. El *kit* diagnóstico InmunoComb® IgM contiene una tarjeta plástica dentada donde se adhieren los anticuerpos del virus del moquillo presentes en la sangre de pacientes positivos a la infección, el fabricante reporta una especificidad del 95,5% y una sensibilidad del 93,1% para la prueba.

Palabras clave: hiperqueratosis, perros, serología, sialorreas, virus

Canine distemper Diagnosis using Dot-ELISA test

ABSTRACT: Presently veterinary doctors usually base on the clinical presentation of the distemper virus in canines for the diagnosis of the disease. As it is presented in this study, the existence of the virus does not correspond only to the symptomatology commonly associated with it. The knowledge of the serological prevalence of canine distemper by means of the diagnosis with the serological InmunoComb IgM (Dot-ELISA) test can evidence the impact of this disease on the canine population taken care of and affected with compatible symptomatology. Not all the patients presenting symptomatology associated with the canine distemper virus are positive on the test. To demonstrate this, a sample of 84 canines which were admitted at the “Diego Villegas Toro” Veterinary Clinic at Universidad de Caldas during 2.5 years was taken. The canines presented nervous, digestive, respiratory, ocular or cutaneous symptomatology which included the systems affected by the virus. Although the above mentioned patients did not present vaccination registration, not all of them showed positive results during the test. The InmunoComb IgM diagnostic kit contains a plastic toothed card where the distemper virus antibodies present in blood of patients positive to the infection stick. The manufacturer reports a specificity of 95.5% and a sensibility of 93.1% for the test.

Key words: hyperkeratosis, dogs, serology, sialorrea, virus

* Financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados de La Universidad de Caldas.

Introducción

El distemper canino es probablemente la enfermedad viral y altamente contagiosa de mayor distribución mundial. Es producida por un paramixovirus del género morbilivirus. Para evitar esta enfermedad es necesaria la vacunación anual que suele reducir pero no eliminar su aparición. En la medida en que la población se encuentre menos vacunada y existan más perros callejeros, aumentará la presentación de casos clínicos.

Aunque es una enfermedad bastante difundida y conocida, presenta ciertas dificultades en el diagnóstico, es por esto que se hace importante las técnicas del laboratorio y su respectiva interpretación.

Es importante tener en cuenta la historia clínica, la evaluación física y los paraclínicos para encontrar el diagnóstico preciso. La enfermedad tiene variadas manifestaciones clínicas que van desde una infección respiratoria o gastrointestinal inespecífica, hasta una afección multisistémica con un alto índice de mortalidad e involucra al Sistema Nervioso Central. La enfermedad suele manifestarse de tres maneras: aguda, subaguda y crónica.

La infección aguda suele tardar de 6 a 15 días entre los que se manifiesta con fiebre, anorexia y el cuadro hemático revela una leucopenia ligera, y evoluciona normalmente acompañada con signos gastrointestinales, respiratorios, deshidratación y pérdida de peso. Los signos que comprometen el sistema nervioso central se pueden evidenciar como: contracciones involuntarias, parálisis especialmente de miembros posteriores, convulsiones, sialorrea, movimientos masticatorios, micción involuntaria y ceguera. También es posible ver hiperqueratosis en las almohadillas plantares y en la nariz.

El diagnóstico es posible realizarlo por medios hematológicos, aunque es difícil la observación de las inclusiones intracitoplasmáticas típicas del moquillo en linfocitos, monocitos y eritrocitos,

en caso de verlos es diagnóstico y la ausencia de estos no excluye la presencia del virus.

Existen técnicas más específicas como los son la serología, Inmunofluorescencia indirecta (IFI), seroconversión, entre otros. El utilizado para este estudio, fue la prueba ImmunoComb® Canine Distemper útil para la respuesta de anticuerpos IgM después de la vacunación o frente a la infección por el virus del moquillo canino.

El método diagnóstico ImmunoComb se basa en una elisa o cromatografía rápida, donde los antígenos están adheridos a la tarjeta plástica, la cual cuenta con 12 dientes que permiten la realización de 12 análisis simultáneos o de manera individual, en él se desarrolla el color plata que se hace más evidente en caso de positividad.

El conocer la seroprevalencia de moquillo canino, mediante el diagnóstico con la prueba serológica InmunoComb® IgM (Dot-ELISA), permite evidenciar el impacto que tiene la enfermedad en la población canina atendida en el Hospital Veterinario “Diego Villegas Toro” de la Universidad de Caldas afectada con sintomatología compatible, realizando la concordancia entre el diagnóstico clínico y el diagnóstico serológico.

Materiales y Métodos

Se tomó como población todos los caninos del municipio de Manizales. La muestra obtenida incluyó 84 caninos en 2,5 años, los cuales ingresaron al Hospital Veterinario “Diego Villegas Toro” de la Universidad de Caldas. Estos no presentaban plan de vacunación y mostraban sintomatología nerviosa, digestiva, respiratoria, ocular o cutánea, que hacen parte de los sistemas afectados por el virus.

A los animales muestreados se les realizó un examen clínico, se diligenció la historia clínica y se tomaron muestras de sangre en tubos vacutainer sin anticoagulante, por flebotomía de la vena cefálica, safena o yugular. Se contó con el

consentimiento informado de los propietarios de las mascotas, y se siguieron las normas éticas para el manejo de animales establecidas en la Ley 84 de 1989 y las normas éticas para investigación sin riesgo en comunidades, descritas en la resolución del Ministerio de Salud No. 008430 de 1993.

Las muestras se enviaron al Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Veterinario “Diego Villegas Toro” de la Universidad de Caldas, donde se centrifugaron a 2600 rpm, durante 5 minutos para la obtención de los sueros, los cuales se llevaron en tubos eppendorf a congelación a -4°C . Con un tiempo de conservación máximo de 3 meses hasta completar las doce muestras de cada kit que permitieron hacer el diagnóstico simultáneo. Cada muestra se etiquetó con el nombre del paciente y la fecha de la toma de la muestra. Se realizó este procedimiento hasta obtener la totalidad de las muestras de los ochenta y cuatro (84) caninos.

El diagnóstico serológico se hizo con el kit serológico InmunoComb® IgM. Biogal Galed Labs. Esta prueba detecta anticuerpos de IgM contra moquillo canino. Tiene una especificidad del 95,5% y una sensibilidad del 93,1% para detectar IgM contra moquillo canino.

Se registró el número de historia clínica para la identificación del animal, la clasificación de los signos clínicos y los resultados de la prueba serológica aplicada.

La serología se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante. El kit diagnóstico InmunoComb® IgM contiene: una tarjeta plástica dentada donde se adhieren los anticuerpos del virus del moquillo presentes en el suero de pacientes positivos a infección, el plato de multicompartimentos donde se depositan las muestras de suero, pinzas para la manipulación apropiada de cada kit y 12 tubos capilares para la recolección de las muestras de sangre. El kit trae una tarjeta calibradora, la cual se compara con el tono de color que se observa en la tarjeta dentada para especificar el estado de

infección de acuerdo a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra. Entre más definido es el color en la prueba, el diagnóstico se hace cada vez más positivo. La tarjeta calibradora trae una escala de detección de anticuerpos que va desde S0 a S6.

Los animales positivos a la serología fueron aislados adecuadamente para realizar el tratamiento correspondiente a la infección, y por medio de su historia clínica y la información suministrada por el propietario, se analizaron las posibles causas de la infección.

El análisis estadístico se realizó por medio de correspondencia simple y de clasificación jerárquica ascendente, tomando como variables activas las frecuencias de los complejos.

Por medio de una prueba de χ^2 se contrastaron los diagnósticos clínicos y serológicos, y esta información se usó para calcular el coeficiente de concordancia Kappa (Pfeiffer, 2002).

Resultados y Discusión

En la Figura 1, se observan en el dendograma los individuos positivos al examen serológico con alteraciones en alguno de los sistemas, respiratorio, digestivo, nervioso, ocular y piel y sus anexos donde cada individuo es excluyente.

De acuerdo con el dendograma o árbol de clasificación, se decidió dejar tres clases para que el corte presentara grupos de individuos más homogéneos.

En la Figura 2, se observan las poblaciones de individuos clasificados por sistemas; se aprecia la relación que tiene el complejo respiratorio con las alteraciones oculares y de piel, pero éste a su vez es excluyente con el complejo digestivo y el complejo nervioso; estos tres complejos son independientes entre sí.

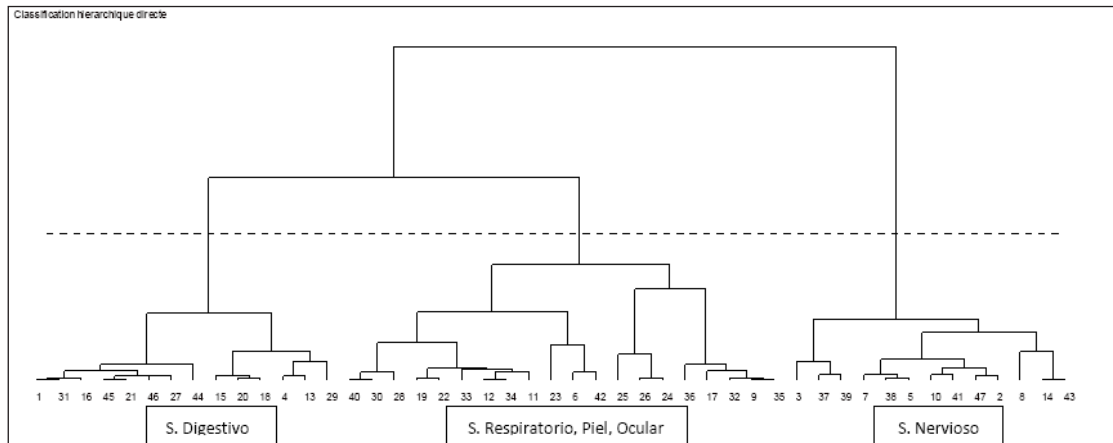


Figura 1. Dendrograma de los individuos positivos al examen serológico con alteraciones en alguno de los sistemas, respiratorio, digestivo, nervioso, ocular, piel y sus anexos donde cada individuo es excluyente.

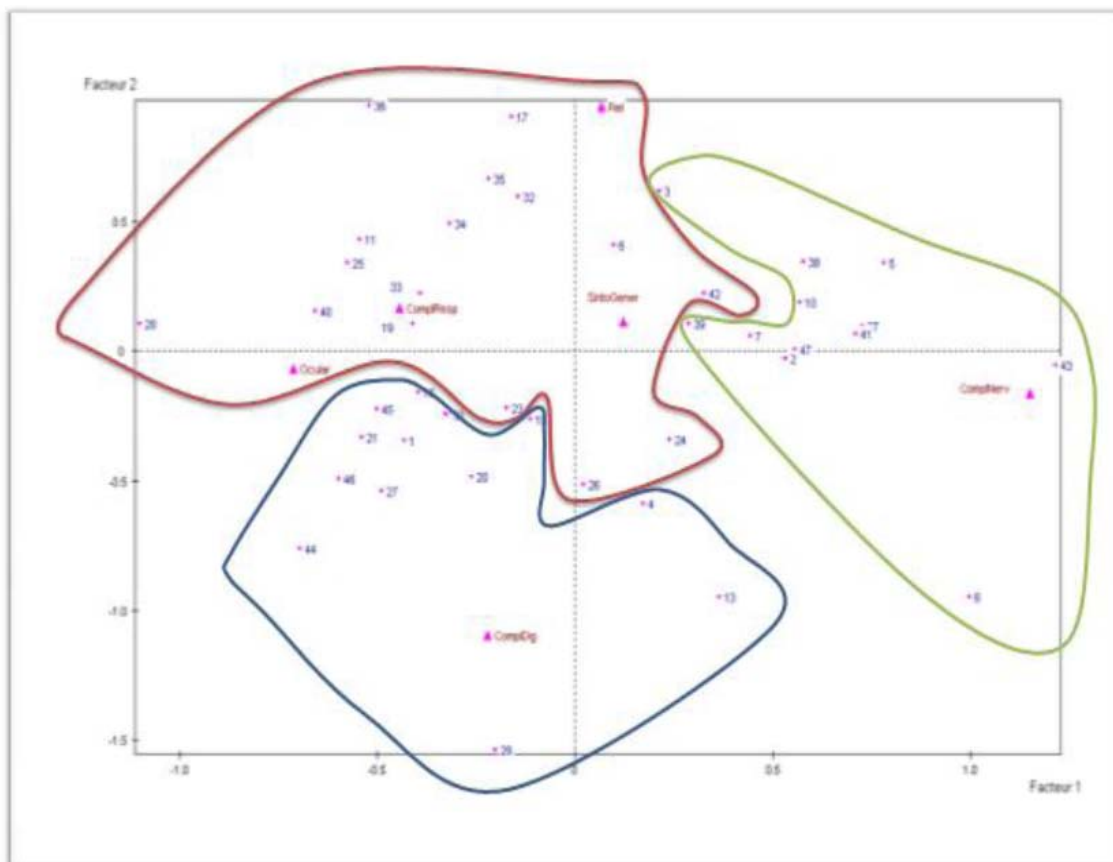


Figura 2. Mapa factorial de individuos y variables por complejos.

En la Tabla 1, se observa el número y el porcentaje de animales clasificados por razas y edades que fueron positivos a la prueba serológica InmunoComb® IgM. Con un nivel de significancia P-value=0,0903 indica que la raza y la edad son variables independientes al momento de analizar la presencia de los síntomas.

En la Tabla 2, se observa la relación entre sexo y raza de los animales con resultado positivo a la prueba serológica InmunoComb® IgM. Con un nivel de significancia P-value=0,9793 indica

que el sexo y la raza son variables independientes al momento de analizar la presencia de síntomas positivos.

En la Tabla 3, se observa la relación entre sexo y edad de los animales con resultado positivo a la prueba serológica InmunoComb® IgM. Con un nivel de significancia P-value=0,0300 indica que la edad y el sexo son variables dependientes al momento de analizar la presencia de síntomas positivos.

Tabla 1. Número y porcentaje de animales clasificados por razas y edades positivos a la prueba serológica InmunoComb® IgM. P-value=0,0903.

| | < a 1 año | 1 - 5 años | > a 5 años | TOTAL |
|----------------|-----------|------------|------------|--------|
| MESTIZO | 14 | 12 | 4 | 30 |
| | 29,79% | 25,53% | 8,51% | 63,83% |
| OTROS | 13 | 4 | 0 | 17 |
| | 27,66% | 8,51% | 0,00% | 36,17% |
| TOTAL | 27 | 16 | 4 | 47 |
| | 57,45% | 30,04% | 8,51% | 100% |

Tabla 2. Relación entre sexo y raza de los animales con resultado positivo a la prueba serológica InmunoComb® IgM. P-value=0,9793.

| | MACHO | HEMBRA | TOTAL |
|----------------|--------|--------|--------|
| MESTIZO | 16 | 14 | 30 |
| | 34,04% | 29,79% | 63,83% |
| OTROS | 9 | 8 | 17 |
| | 19,15% | 17,02% | 36,17% |
| TOTAL | 25 | 22 | 47 |
| | 53,19% | 46,81% | 100% |

Tabla 3. Relación entre sexo y edad de los animales con resultado positivo a la prueba serológica InmunoComb® IgM. P-value=0,0300.

| | MACHOS | HEMBRAS | TOTAL |
|----------------------|--------|---------|--------|
| < a 1 año | 16 | 11 | 27 |
| | 34,04% | 23,40% | 57,45% |
| 1 - 5 años | 5 | 11 | 16 |
| | 10,64% | 23,40% | 34,04% |
| > a 5 años | 4 | 0 | 4 |
| | 8,51% | 0,00% | 8,51% |
| TOTAL | 25 | 22 | 47 |
| | 53,19% | 46,81% | 100% |

En el análisis de las tablas de contingencia de las variables de raza, edad (Tabla 1), sexo y raza (Tabla 2), se determinó que son independientes pero en el análisis sexo y edad (Tabla 3), el virus del moquillo canino se puede manifestar en cualquier raza, sexo y edad del animal siendo más susceptibles los cachorros en los cuales la protección materna ha terminado y que no recibieron un plan vacunal adecuado, lo cual se relacionó con lo dicho por Leib & Michael (1997), donde expresan que el VMC puede afectar a cualquier edad, raza y sexo y puede ser diagnosticado tanto en perros vacunados como en no vacunados.

De los 47 caninos serológicamente positivos, 4 caninos eran mayores de 5 años considerados perros gerontes, los cuales presentaron sintomatología relacionada con el complejo nervioso. Los individuos más jóvenes presentaban alteraciones en alguno de sus complejos como el respiratorio, digestivo, afecciones en piel, ocular y en algunos casos también se presentaban afecciones en su sistema nervioso central, esto se relaciona con lo reportado por Don-jun An et al. (2007), en un estudio realizado en Corea. Los caninos infectados con el virus del moquillo canino podrían ser clasificados al menos en dos grupos clínicos, considerados como perros jóvenes con signos asociados al sistema nervioso central, con síntomas respiratorios y/o gastrointestinales, y perros gerontes únicamente con signos del sistema nervioso central.

De acuerdo con lo reportado en las historias clínicas los signos más comunes son hipertermia, postración, anorexia, conjuntivitis e inapetencia. Estos signos clínicos presentados por los caninos muestreados y positivos al kit serológico, tienen semejanza con lo reportado por el investigador Arenas et al. (citados por Vadillo et al., 2002. p. 660-661.): “La forma más común de presentación clínica suele iniciarse con abatimiento, postración, estado febril de curva bifásica, conjuntivitis, opacidad y úlceras de la cornea e incluso suele presentarse aborto”.

Las afecciones del sistema nervioso se evidenciaron por la presencia de mioclonos,

movimiento pendular de la cabeza, marcha en círculos, parálisis de los miembros posteriores y convulsiones. Estos signos hallados en la presente investigación concuerdan con lo informado por Ettinger & Feldman (2005). Las anormalidades neurológicas pueden reflejar lesiones en algún sitio del sistema nervioso central e incluyen lesiones, ataxia, hipermetría y paraparesia o tetraparesia. Los mioclonos, también generalizados o focales, son un signo clínico común y sugiere fuertemente una infección del virus del moquillo canino, este virus produce secreciones al infectar los macrófagos en el tracto respiratorio alto y pulmones, el cual es transportado a los nódulos linfáticos y tonsilas en las primeras 24 horas. Según lo reportado por Greene (2000), el primer pico febril se reduce durante varios días hasta que se produce una segunda elevación de la temperatura que dura menos de una semana, y donde la fiebre puede acompañarse de secreción nasal serosa, ocular muco purulenta y anorexia; lo mencionado por el autor corresponde con lo encontrado en el presente estudio, donde 36 individuos tuvieron afecciones en su complejo respiratorio con secreción nasal purulenta, tos, estornudos y algunos en número reducido se auscultaron estertores crepitantes, la mayoría de animales con su tracto respiratorio alto afectado, pero al cabo de unos días se recuperaban de la alteración.

A nivel digestivo las alteraciones más relevantes fueron vómito, diarrea que iban desde mucoides hasta sanguinolentas, lo cual se asemeja con lo expresado por los autores Arenas et al. (citados por Vadillo et al., 2002) en el sistema digestivo se presenta al comienzo de la infección vómito y diarrea que puede ser sanguinolenta o mucoide.

A nivel ocular se presentó conjuntivitis, opacidad corneal, secreción ocular purulenta; lo cual corrobora lo expresado por Jubb et al., (2007), quienes afirman que las lesiones oculares incluyen conjuntivitis, queratitis, retinitis, y neuritis óptica. La conjuntivitis es muy común en los estados tempranos de la enfermedad y ocasionalmente se extiende a la córnea causando una queratitis ulcerativa.

A nivel cutáneo la infección por moquillo canino puede acompañarse de hiperqueratosis del plano nasal y de las almohadillas plantares formando placas hiperqueratósicas en pulpejos (Wilkinson & Harvey, 1998). En los individuos que presentaron lesiones a nivel cutáneo en esta investigación, el signo más representativo fue la hiperqueratosis de almohadillas y plano nasal, y un número alto de estos individuos que después regresaron al Hospital Veterinario “Diego Villegas Toro” ya presentaba alteraciones a nivel del SNC, y los que ya presentaban alteraciones nerviosas ya tenían la hiperqueratosis, esto lo confirman Ettinger & Feldman (2005), quienes expresan que los perros que desarrollan lesiones pustulosas de piel son menos vulnerables al desarrollo de la enfermedad del SNC, que aquellos que exhiben hiperqueratosis del plano nasal y de las almohadillas digitales, los cuales con frecuencia se asocian a signos neurológicos. De acuerdo al mapa factorial de individuos y variables por complejos, se encontró la relación que hay entre el complejo respiratorio con las alteraciones de piel y ocular. Los signos generales son comunes en cualquiera de los sistemas afectados; se observa la independencia que existe entre los sistemas respiratorio, digestivo y nervioso.

El índice de Kappa arrojó un resultado de 0,3 lo cual se interpreta como ausencia de relación entre el diagnóstico clínico y el diagnóstico serológico (Pfeiffer, 2002).

Conclusiones

El Médico Veterinario Clínico no puede diagnosticar el virus de moquillo canino basándose únicamente en la presentación de síntomas clínicos, para llegar a este diagnóstico debe realizar pruebas de laboratorio específicas para la entidad.

Se confirma con los resultados obtenidos que el virus de moquillo canino se puede presentar en cualquier edad, raza y sexo; pero la correlación sexo vs. edad estadísticamente fue dependiente,

mientras que edad vs. raza y sexo vs. raza fueron completamente independientes.

Los complejos respiratorio, digestivo y nervioso fueron independientes entre sí, pero el sistema cutáneo y ocular guardan una estrecha relación con el sistema respiratorio; y los síntomas generales se presentan en cualquiera de los complejos anteriormente mencionados.

De acuerdo con el índice de Kappa, se concluye que hay ausencia de concordancia entre los diagnósticos realizados.

El kit InmunoComb® IgM se recomienda utilizarlo como prueba serológica diagnóstica, aunque para próximas investigaciones se deben utilizar pruebas que evalúen preferiblemente antígenos y no anticuerpos.

Referencias Bibliográficas

- Appel, M.J. **Manual de las Enfermedades Infecciosas en Pequeños Animales**. Buenos Aires, Argentina: Editorial Medicina Panamericana. 1992. 102p.
- Berrios, P. & Durán, C. Principales enfermedades virales de los caninos. Situación en Chile. Sociedad Chilena de Infectología Veterinaria. [En línea]: **Monogr. Electron. Patol. Vet.**, v.2, n.2, p. 68-93, 2005. Disponible en: <http://www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/MEPAVET2-2005/html/Mepavet11.htm> Accesado en: 5/11/2008 11:00 a.m.
- Dong-Jun An et al. An immunochromatography assay for rapid antemortem diagnosis of dogs suspected to have canine distemper. [En línea]: **Journal of virological methods**, 2007. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com> Accesado en: 9/06/2008 7:47 p.m.
- Ettinger S.J.; Feldman E.C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 6. ed. St Louis, USA: Elsevier. 2005.
- Greene, C.E. **Manual Merk de Veterinaria**. 5. ed. Barcelona, España: Grupo Editorial Océano, S.A., 2000. p. 616-618.
- Jara M.C., et al. **Distémper canino en Isla Robinson Crusoe**. (Archipiélago Juan Fernández, V Región): antecedentes de un brote epidémico.

- [En línea]: Boletín Veterinario Oficial, BVO, n.8, I semestre, 2007. Accesado en: 7/06/2008 1:04 p.m.
- Jubb, K.; et al. Palmer's. **Pathology of Domestic Animals**. 5. ed. Philadelphia, USA: Elsevier. 2007. p. 635-638.
- Laidlaw & Dunkin. **Hermosas historias de vida**. [En línea]: Publicado por Falala. Accesado en: Octubre 15/10/2008 2:35 p.m.
- Leib, S.; Michael, M. **Practical Small Animal Internal Medicine**. In: Linda G.S.; Diseases of the cerebrum. 1997. p. 502-504.
- Mohanty, Shahi B.; Dutta, Sukanta K. **Virología Veterinaria**. Maryland, USA: Nueva editorial Interamericana. 1983. p. 237-325.
- Pfeiffer, D. **Veterinary Epidemiology - An Introduction**. Oxford, U.K.: Wiley-Blackwell. 2002.
- Sherding, R.G.. **Manual Clínico de Pequeñas Especies**. México D.F., México: MacGraw-Hill - Interamericana editores S.A. 1996. p. 125-128.
- Vadillo et al., **Manual de Microbiología Veterinaria**. Madrid, España: MacGraw-Hill - Interamericana. 2002. p. 660-661.
- Wilkinson G.T.; Harvey R.G. **Atlas de color de dermatología de pequeños animales**. 2. ed. Editorial Harcourt-Brace. 1998. p. 109-110.
- Zurbriggen A, Vandeveld M. **The Pathogenesis of nervous distemper**. USA: AGRIS. 1994. p. 109-116.