

## Efecto de los polipéptidos linforeticulares en caninos con parvovirus en Funza, Cundinamarca

Ana Salavarieta Rey<sup>1</sup>, Catalina Espinosa Avila<sup>2</sup>, Víctor Manuel Acero<sup>3</sup>, Guillermo Mejía Mejía<sup>4</sup> (Q.E.P.D.).

Recibido: 18 noviembre 2014 / Aceptado: 16 diciembre 2014

### ■ Resumen

**Introducción.** Los polipéptidos linforeticulares son sustancias proteicas (hepáticas y esplénicas) de origen porcino obtenidos por procesos de fragmentación proteica los cuales tienen propiedades inmunes y metabólicas ampliamente demostradas.

**Objetivo.** El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los polipéptidos linforeticulares en un grupo de caninos con parvovirus en Funza, Cundinamarca.

**Materiales y métodos.** Se seleccionaron pacientes de una clínica veterinaria en Funza, positivos a parvovirus, determinado con la prueba CPV Ag Test Kit Anigen Rapid®. Dentro del estudio participaron diez animales, separados en un grupo control y grupo experimental (polipéptidos linforeticulares). Ambos grupos recibieron tratamiento sintomático convencional para la enfermedad. A cada animal se le evaluaron signos clínicos y dos cuadros hemáticos, antes del inicio del tratamiento y después. Se aplicaron pruebas estadísticas de diseño factorial A x B, Kruskal Wallis y X<sup>2</sup> para determinar si había diferencias significativas entre las variables (hemograma, leucograma y signos clínicos) con respecto al tratamiento de cada grupo experimental. **Resultados y conclusiones.** Se determinó que en ninguno de los grupos hubo diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo haciendo un análisis particular de los casos, se vieron diferencias importantes en el análisis de los leucogramas del grupo experimental. En cuanto a signos clínicos no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. El grupo de caninos del estudio tratado con polipéptidos linforeticulares mostró incrementos en los valores hemáticos a nivel del leucograma, pudiéndose valorar como un coadyuvante en el tratamiento de esta u otras enfermedades.

**Palabras clave:** coadyuvante, parvovirus, polipéptidos linforeticulares.

1 DMV, Centro Veterinario Uptown Pets

2 DMV, Práctica Privada

3 DMV, cMSc, Director Ejecutivo, Asociación Nacional de Médicos Veterinarios de Colombia (AMEVEC). Member World Veterinary Association (WVA). sepulvic@gmail.com

4 MD, Esp., Director Científico Laboratorios Urbimed S.A.S. Bogotá. Colombia



## Effect of lymphoreticular polypeptides on dogs with parvovirus in Funza, Cundinamarca

### ■ Abstract

**Introduction.** Lymphoreticular polypeptides are protean substances (hepatic and splenic) from a porcine origin and obtained by means of protean fragmentation processes with widely demonstrated immune and metabolic properties. **Objective.** This work aims to evaluate the effect of lymphoreticular polypeptides on a group of dogs with parvovirus in Funza, Cundinamarca. **Materials and methods.** Patients from a veterinary clinic in Funza, positive for parvovirus by means of the CPV Ag Test Kit Anigen Rapid®, were selected. Ten animals were used in the study, and they were divided into two groups: the control group and the experimental group (lymphoreticular polypeptides). Both groups received a conventional treatment for the disease's symptoms. Before and after the treatment, every animal was evaluated under clinical signs terms and had two CBCs. A x B, Kruskal Wallis y X<sup>2</sup> factorial design statistic tests were applied in order to determine if there were significant differences between variables (hemogram, leucogram and clinical signs) in the treatment for every experimental group. **Results and conclusions.** There were no statistically significant differences in any of the groups, but an individual analysis of every case demonstrated important differences in the analysis of the leucograms from the experimental group. Regarding the clinical signs, significant differences were not found between the groups. The dogs treated with lymphoreticular polypeptides had increases of their hematic values in the leucogram, and, therefore, the leucogram can be regarded as an adjunctive therapy in the treatment of this and other diseases.

**Key words:** adjunctive therapy, parvovirus, lymphoreticular polypeptides.

## Efeito dos polipeptídios linforreticulares em caninos com parvovirose em Funza, Cundinamarca

### ■ Resumo

**Introdução.** Os polipeptídios linforreticulares são substâncias proteicas (hepáticas e esplênicas) de origem porcino obtidos por processos de fragmentação proteica os quais têm propriedades imunes e metabólicas amplamente demonstradas. **Objetivo.** O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos polipeptídios linforreticulares num grupo de caninos com parvovirose em Funza, Cundinamarca. **Materiais e métodos.** Selecionaram-se pacientes de uma clínica veterinária em Funza, positivos a parvovirose, determinado com a prova CPV Ag Teste Kit Anigen Rapid®. Dentro do estudo participaram dez animais, separados num grupo controle e grupo experimental (polipeptídios linforreticulares). Ambos grupos receberam tratamento sintomático convencional para a doença. A cada animal se lhe avaliaram signos clínicos e dois quadros hemáticos, antes do início do tratamento e depois. Aplicaram-se provas estatísticas de desenho fatorial A x B, Kruskal Wallis e X<sup>2</sup> para determinar se tinha diferenças significativas entre as variáveis (hemograma, leucograma e signos clínicos) com respeito ao tratamento de cada grupo experimental. **Resultados e conclusões.** Determinou-se que em nenhum dos grupos teve diferenças estatisticamente significativas. No entanto fazendo uma análise particular dos casos, viram-se diferenças importantes na análise dos

leucogramas do grupo experimental. Quanto a signos clínicos não se encontraram diferenças significativas entre os grupos. O grupo de caninos do estudo tratado com polipeptídios linforreticulares mostrou incrementos nos valores hemáticos a nível do leucograma, podendo-se valorizar como um coadjuvante no tratamento desta ou outras doenças.

**Palavras importantes:** coadjuvante, parvovirose, polipeptídios linforreticulares.

## ■ Introducción

La parvovirus canina ha representado a lo largo del tiempo un problema en cuanto a la salud de los cachorros, por su alto índice de morbilidad y mortalidad, identificándose por primera vez en Colombia en 1982 (Ariza, Fuentes, Vera et al., 2005). A pesar de que en nuestro país hay disponibilidad de la vacuna, muchos de los cachorros no son vacunados por factores socio-económicos y culturales, aumentando así el riesgo de infección. Sin embargo, la vacunación no es eficaz al cien por ciento, ya que caninos vacunados son susceptibles a cepas nuevas del virus u otros factores externos que afectan el proceso de vacunación o el desarrollo de inmunidad (Flores, 1987; Truyen, 2006).

Después de su primer reconocimiento, el tipo original del virus CPV-2 mutó, dando lugar al CPV-2a, el cual presentó otra mutación, clasificada como CPV-2b (Truyen, 2006). Existe una nueva mutación denominada CPV2c la cual fue detectada en Argentina, Italia, luego en Vietnam, España, USA, Portugal, Alemania, Reino Unido y recientemente en Uruguay. Los signos clínicos producidos por la infección con la variante viral CPV2c son en cierta forma diferentes a los generados por las variantes CPV2a/b, esto puede llegar a complicar el diagnóstico de la enfermedad (Calderón, Mattion, Bucafusco et al., 2009).

Éste es uno de los virus animales más comunes en las enteritis severas en perros (Calderón, Romanutti, D'Antuono et al., 2011), afectando principalmente cachorros de 6 a 12 semanas de vida, pero teniendo también la capacidad de infectar animales de mayor edad (Sosa, 2009).

La principal vía de transmisión de la Parvovirus es fecal-oral/nasal, luego se disemina principalmente a los órganos linfoides (Flores, 1987; Sosa, 2009), generando una infección generalizada (Decaro y Buonavoglia, 2012). El virus es excretado en la materia fecal de los animales infectados, los cuales actúan como reservorio hasta 25 días (Flores, 1987; Sosa, 2009).

Los signos clínicos ocurren después de un periodo de incubación de 3 a 7 días y típicamente consisten en anorexia, depresión, vómito y diarrea mucosa o hemorrágica, frecuentemente se presenta deshidratación y fiebre. La leucopenia es un hallazgo frecuente, con un conteo de leucocitos entre 2000 – 3000 células/ $\mu$ L de sangre (Decaro et al., 2012).

Los polipéptidos linforeticulares (Uprone®) es un producto derivado de péptidos esplénicos y hepáticos de origen porcino, los cuales actúan como coadyuvantes metabólicos específicos para el normal funcionamiento celular (Mejía, 2007).

Los péptidos linforeticulares provienen de tejidos esplénicos y hepáticos inmunocompetentes que ayudan o estimulan la producción de inmunoglobulinas. El bazo cumple una importante función en el sistema inmunológico como es la diferenciación temprana celular. Por otro lado el hígado es el órgano donde se producen las reacciones de fase aguda y la síntesis de proteínas plasmáticas, importantes en los procesos de defensa orgánica (van't Veen, Ruyter, Mouton et al., 1996; Mejía, 2010).



Tanto datos farmacológicos como clínicos han demostrado la interacción de este tipo de productos con el sistema inmunológico incrementando la inmunoreactividad humoral o celular del paciente, estimulando la transferencia de señales para la regulación o estabilización biológica y activación de las células NK (de Ojeda, Diez-Orejas, Portolés et al., 1994, van't Veen et al., 1996; Mejía, 2007; Mejía, 2010).

El uso de estos compuestos ha generado en pacientes inmunoreacciones dependientes de células T, donde su aumento protege al huésped infectado reconociendo y eliminando células diana infectadas (van't Veen et al., 1996).

De igual manera, varios trabajos experimentales y ensayos de campo ha demostrado su uso y resultados satisfactorios en animales (Ardila, Chaki, Martínez et al., 2010; Acero, Cristancho, García et al., 2010, Zuluaga, Contreras, Garavito et al., 2012).

## ■ Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en el Municipio de Funza, Cundinamarca, situado a 15 Km de la ciudad de Bogotá y a 2.548 msnm. Es susceptible a heladas y tiene una irregular distribución de lluvia, con una temperatura promedio de 14°C° (Alcaldía de Funza, 2013). Dentro del área urbana de este municipio, el punto de estudio se realizó en La Clínica veterinaria Funza.

Siguiendo la metodología descrita por Ardila et al., en 2010 mediante muestreo no probabilístico (a juicio y por conveniencia de la disponibilidad de los casos en un tiempo determinado), se emplearon 10 animales separados en 2 grupos, un grupo control y un grupo experimental, cada uno constituido por 5 animales, de varias razas (lo cual podría afectar la respuesta individual), tanto de hembras y machos con edades comprendidas entre los 3 y 7 meses de vida (Tabla 1). La

diferencia entre dichos grupos radica en que al grupo experimental se le administró una dosis de polipéptidos linforeticulares a dosis de 200mg/perro/día. El tratamiento de ambos grupos se realizará de manera convencional según lo descrito por (Goddard y Leisewitz, 2010).

**Tabla 1.** Grupos del estudio

| Pacientes    |               | Variables |              |
|--------------|---------------|-----------|--------------|
| Experimental | Raza          | Sexo      | Edad (meses) |
| 1            | Bulldog       | h         | 6            |
| 2            | Shih tzu      | m         | 4            |
| 3            | Beagle        | m         | 3            |
| 4            | Basset hound  | h         | 7            |
| 5            | Schnauzer     | h         | 5            |
| Control      |               |           |              |
| 1            | French poodle | m         | 5            |
| 2            | Bulldog       | h         | 5            |
| 3            | Criollo       | m         | 6            |
| 4            | Labrador      | h         | 3            |
| 5            | Criollo       | h         | 7            |

h: hembra, m: macho

Se seleccionaron 10 casos de cachorros menores de 1 año, sin historial de vacunación, de la Clínica Veterinaria Funza, los cuales según la sintomatología (decaimiento, inapetencia, vómito y diarrea) eran sospechosos de parvovirus. El día de ingreso a la Clínica Veterinaria se les realizó un test de diagnóstico rápido a parvovirus y de esta manera fueron diagnosticados por medio de la prueba CPV Ag Test Kit Anigen Rapid® como positivos a dicha enfermedad.

Los diez animales fueron hospitalizados en las instalaciones de la Clínica Veterinaria Funza, de tal manera que durante los diez días de evaluación fueron atendidos y tratados por el mismo personal, mismas condiciones climáticas y ambientales y el mismo protocolo médico.

Al haber ingresado a hospitalización fueron conformados al azar los dos grupos, uno experimental (tratamiento convencional y polipéptidos linforeticulares) y otro control (tratamiento convencional), constituido cada uno por cinco perros. A ambos grupos se les tomó una muestra de sangre para análisis de cuadro hemático el primer día de hospitalización, antes del inicio del tratamiento. Posteriormente se inició el tratamiento con un protocolo farmacológico utilizado rutinariamente en la clínica Funza para los casos de parvovirus igual para ambos grupos constituido por metronidazol (dosis: 15mg/kg, cada 12 horas, IV) y amikacina (dosis: 25mg/kg, cada 24 horas, IV) como tratamiento antibiótico; metoclopramida (dosis: 0.3 mg/kg cada 24 horas, SC) y/o ondansetron (dosis: 0.7 mg/kg, cada 24 horas, IV) como antiemético; ranitidina (dosis: 2mg/kg, cada 12 horas) como antiácido

y fluidoterapia intravenosa, basada en NaCl al 0.9%, 500 ml/24 horas (según evaluación clínica) (Bird y Tappin, 2013). Al grupo experimental se le administró este mismo protocolo y se le adicionó una capsula de polipéptidos linforeticulares (200mg/perro/día) durante los diez días.

Durante los 10 días de hospitalización fueron evaluados los cambios en los signos clínicos tanto en los pacientes pertenecientes al grupo tratamiento como a los del grupo control, teniendo en cuenta apetito, actitud, características de materia fecal y presencia de vómito, según Savigny y Macintire en 2010 (Tabla 2 y 3). Los animales, además de tener atención médica constante fueron evaluados en cada uno de estos aspectos dos veces al día, en la mañana y en la tarde.

**Tabla 2.** Sistema de puntuación de signos clínicos.

| Valor | Actitud                    | Apetito                             | Vómito                            | Heces                            |
|-------|----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| 0     | Normal                     | Normal                              | Ausente                           | Bien formadas o ausentes         |
| 1     | Depresión menor o moderada | Come libremente pequeñas cantidades | Escaso; una vez c/12 horas        | Heces blandas y pastosas         |
| 2     | Depresión severa           | No interesado en comer              | Moderado; 2-5 veces c/12 horas    | Diarrea acuosa, no sanguinolenta |
| 3     | Shock o moribundo          | No se ofrece alimento               | Severo; más de 6 veces c/12 horas | Diarrea acuosa, hemorrágica      |

Tomado de: Savigny y Macintire, 2010

**Tabla 3.** Formato evaluación de signos clínicos.

| Paciente no. _ | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | ... | Día 10 |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-----|--------|
| Actitud        |       |       |       |       |     |        |
| Apetito        |       |       |       |       |     |        |
| Vómito         |       |       |       |       |     |        |
| Heces          |       |       |       |       |     |        |
| Total          |       |       |       |       |     |        |

Tomado de: Savigny y Macintire, 2010



Se realizó finalmente un muestreo hematológico al finalizar el tratamiento el día 10, con el fin de comparar los resultados de los exámenes iniciales con los finales.

Posteriormente se procedió a realizar el análisis y comparación de resultados tanto de cuadros hemáticos como de sinología clínica, para de esta forma establecer las diferencias entre ambos grupos.

Se realizó un análisis con base en la estadística descriptiva, utilizando un diseño factorial A x B para el análisis de las variables de eritrocitos, hematocrito y hemoglobina entre el grupo control. En cuanto al análisis de los leucogramas se utilizó el método estadístico no paramétrico Kruskal wallis, para los leucocitos, linfocitos y neutrófilos. Según Martin et al., 2002, quienes trabajaron con un número de animales similar a este estudio, se aplicó la prueba estadística de  $X^2$  para determinar si existían diferencias estadísticas entre los signos clínicos con respecto al tratamiento de cada grupo experimental.

En este estudio se tuvo en cuenta la ley 84 de 1989 acerca del bienestar animal y las condiciones necesarias para animales de experimentación en Colombia.

## ■ Resultados y discusión

### Cuadros hemáticos y Línea roja del grupo experimental

A nivel de la línea roja (cuadro hemático), en términos generales los pacientes del grupo experimental no presentaron cambios significativos entre los valores del primer cuadro hemático y los del segundo.

El 60% de los pacientes presentaron anemia en el segundo cuadro hemático, lo cual puede estar asociado a la pérdida de sangre por vómito y

en la materia fecal, signos característicos de la enfermedad (Hoskins, 2000).

El 40% de los pacientes se encontró dentro de los rangos normales en el segundo cuadro hemático, esto puede darse posiblemente por aquellos casos en que los pacientes no presentaron diarreas sanguinolentas severas. En el caso de pacientes que presentan episodios de diarrea severa, es posible que a pesar de aparentar valores normales tuvieran anemia enmascarada por la hemoconcentración causada por el grado de deshidratación (Hoskins, 2000).

A nivel de eritrocitos el paciente No. 3 presentó el descenso más evidente entre todos los pacientes del grupo experimental, evidenciando también una baja en cuanto al hematocrito y la hemoglobina. La evidencia de esta anemia leve se puede entender debido a que el efecto de la infección de CPV-2 sobre la médula ósea causa necrosis de las células mieloideas y de las células eritroideas. Se observan pocos efectos sobre los índices de los glóbulos rojos, aunque puede producirse una anemia debido a la pérdida de sangre por el tracto gastrointestinal (Hoskins, 2000).

### Línea roja del grupo control

En la línea roja del cuadro hemático, en términos generales los pacientes del grupo control no presentaron cambios significativos entre los valores del primer cuadro hemático y los del segundo.

En cuanto al recuento de eritrocitos de los pacientes del grupo control en el primer cuadro hemático, se evidencian pacientes con anemia, lo cual concuerda con lo descrito por Villiers y Blackwood en 2009, una hemorragia aguda producida por una afección gastrointestinal podría provocar anemia. El parvovirus está entre las causas de anemia no regenerativa, tal como lo señala Cotter en 2001, consecuencia

del daño en la médula ósea, y por lo general es concurrente a leucopenia.

Mediante un diseño factorial A x B, que nos revela la interacción entre los dos grupos experimentales, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) entre los resultados de los cuadros hemáticos para las variables de eritrocitos, HCCM, hematocrito y hemoglobina entre el grupo control y el experimental.

### Línea blanca del grupo experimental

Existen varios estudios que demuestran la necesidad de un tratamiento adyuvante que incremente las defensas para enfermedades virales en animales, tales como lo descrito por Martin et al., 2002, Duffy et al., 2010, Savigny et al., 2010, Bragg, Duffy, DeCecco et al., 2012; entre otros, con múltiples resultados. Por ejemplo, Bragg et al., en 2012 indican que la administración

de concentrados de IgG canina liofilizada en caninos con CPV disminuye significativamente la duración de la hospitalización de los pacientes, sin embargo, no hubo diferencias significativas en valores leucocitarios durante el estudio, entre los conteos de neutrófilos o monocitos, lo cual concuerda con este estudio, ya que se administraron compuestos del sistema inmune contenidos en los polipéptidos linforeticulares. La función principal de estas moléculas, es actuar como "modificadores de la respuesta biológica", neutralizando, impidiendo y modulando los procesos mórbidos, así como también aportando los elementos necesarios para la regeneración y reconstrucción celular producidos por una injuria determinada (Mejía, 2014).

En cuanto al primer leucograma el 80% de los pacientes presentó leucopenia, de los cuales el 75% del grupo experimental aumentó su conteo leucocitario para la segunda medición (Tabla 4).

**Tabla 4.** Comparación de los resultados de la línea de células blancas entre el primer y el segundo cuadro hemático del grupo experimental.

| Línea blanca grupo experimental | Rango leucocitos: 6.0-17.0 % ( $10^3/\mu\text{l}$ ) |        | Rango linfocitos: 1.0-4.8 $10^3/\mu\text{l}$ |        | Rango neutrófilos: 3.0-11.5 $10^3/\mu\text{l}$ |        |
|---------------------------------|---|--------|--|--------|--|--------|
|                                 | C.H 1.  | C.H 2. | C.H 1.                                       | C.H 2. | C.H 1.   | C.H 2. |
| Paciente 1                      | 2,2   | 5,7    | 0,8  | 1,4    | 0,9  | 3,1    |
| Paciente 2                      | 2,9   | 21,1   | 0,5  | 5,9    | 1,7  | 13,2   |
| Paciente 3                      | 7,8   | 5,7    | 1,8  | 0,7    | 4,9  | 4,7    |
| Paciente 4                      | 1,4   | 22,2   | 0,3  | 3,9    | 0,9  | 17,3   |
| Paciente 5                      | 4   | 2,3    | 1,4  | 1,8    | 2,6  | 0,3    |

C.H.: Cuadro Hemático

Los resultados a nivel del leucograma de la mayoría de los pacientes del estudio concuerdan con lo propuesto por Xinhua, Shan y Mingqian en 1998, en donde los niveles de células de la línea blanca fueron notablemente más altos en

el grupo tratado con quimioterapia y polipéptidos linforeticulares, que en el grupo tratado solo con quimioterapia, mejorando su función celular inmune y haciéndolos más resistentes a recaídas o complicaciones.



El 40% de los pacientes presentaron disminución en los leucocitos, lo cual concuerda por lo reportado por Dudley en 1998 y Hoskins en 2000, quienes plantean que durante la enfermedad se destruyen células linfoides y precursores de leucocitos circulantes mitóticamente activos. En infecciones graves los resultados suelen ser neutropenia y linfopenia, al comienzo solo algunos cachorros exhiben leucopenia, pero recuentos leucocitarios seriados en los días posteriores detectan una leucopenia moderada a marcada en la mayoría de los casos, compuesta por neutropenia y linfopenia.

En cuanto al análisis de linfocitos del segundo cuadro hemático se encontró linfopenia en un 20% de los casos, la cual se asoció a la leucopenia, siendo ésta una de las alteraciones hematológicas más frecuentes en perros hospitalizados y enfermos atribuyéndose a los efectos de los corticosteroides endógenos generados por estrés. El 20% del grupo experimental presentó disminución en el conteo linfocitario después de los diez días de tratamiento. Este resultado es similar a lo propuesto por Sherding et al., en 1994, Barr en 1998 y Hoskins en 2000, quienes postulan que en los casos graves de la enfermedad, se observa una reducción progresiva de la cantidad de leucocitos del día 3 al día 5 después de la infección, donde los recuentos de células blancas reflejan disminución periférica y destrucción mieloidea.

El 60% de los valores de los pacientes se encontraron dentro de los rangos normales después de haber presentado linfopenia en el primer cuadro hemático y el 20% presentó linfocitosis después de una linfopenia inicial, demostrando una estabilización significativa en el conteo de linfocitos en sangre periférica, lo cual se asemeja a lo reportado por Mejía en el 2007, en donde la administración de polipéptidos esplénicos en pacientes con quimioterapia generó estabilización de dichas células en sangre periférica, produciendo en si una modificación

de la respuesta biológica por activación de los linfocitos T.

El 40% de los pacientes disminuyeron el conteo de neutrófilos. Esta disminución en los neutrófilos concuerda con lo reportado por Decaro y Buonavoglia en 2012 en donde la infección circulante induce linfopenia, la cual está frecuentemente asociada con neutropenia. La leucopenia es un hallazgo frecuente en pacientes con parvovirus, con un conteo de células blancas que va de 2000–3000 células/ $\mu$ L de sangre.

Los neutrófilos se vieron afectados con una neutropenia en el segundo cuadro hemático únicamente en el 20% de los casos, lo cual según Hoskins en 2000, puede ser posiblemente por un consumo excesivo de neutrófilos en infecciones graves. El 40% de los pacientes presentó los niveles de neutrófilos dentro del rango y el 40% con neutrofilia. Del total de los pacientes de este grupo, el 60% presentó un aumento de los neutrófilos en el segundo cuadro hemático en comparación del dato inicial, lo cual, según Sherding et al., en 1994, Barr en 1998 y Hoskins en el 2000 indican un resultado final positivo del tratamiento de sostén. Datos reportados por Mejía en el 2007, han demostrado una influencia positiva de las preparaciones de péptidos esplénicos de bajo peso molecular, en la inmunoreacción dependiente de células de la línea blanca (liberación de citoquinas, actividad de CTL) los cuales son importantes para los mecanismos de defensa antiviral. Estos efectos podrían llevar a una mejoría en la resistencia contra las infecciones virales, lo cual puede ofrecer un tratamiento adicional a los pacientes inmunosuprimidos durante la terapia complementaria.

## Línea blanca del grupo control

La mayoría de los caninos del grupo control en el primer cuadro hemático, manifestaron



leucopenia. A pesar de que en el segundo cuadro hemático la mayoría de pacientes presentaron incremento de los valores leucocitarios, no alcanzaron a normalizar los parámetros. La leucopenia del 80% de pacientes en el primer cuadro hemático, es constante en el 80% de pacientes en el segundo cuadro hemático, lo cual posiblemente se deba al daño producido por la replicación del virus en los tejidos linfoides, bazo, timo y médula ósea, tal como lo reporta García en 2007.

En el estudio de Kogika et al., 2003, en el 60% de los casos de parvovirus canino se observó leucopenia con desviación a la izquierda en un hemograma inicial y en el 100% de los casos, entre el día segundo y tercero de progresión de la enfermedad, con normalización de leucocitos entre los días quinto y octavo, indicando así, un proceso de inflamación aguda resultante de la infección. Esto es similar a lo obtenido en este estudio donde en el 60% de los pacientes del grupo control, los valores leucocitarios mostraron incremento en el segundo cuadro hemático.

En el grupo control, el 80% de los pacientes presentaron en el primer cuadro hemático neutropenia en el primer muestreo, tal como lo reportan Villiers y Blackwood en 2009, el efecto normal de la infección por CPV-2 en caninos es una neutropenia dada por el incremento del gasto de estas células debido a la endotoxemia o enfermedad intestinal presente en el paciente. La producción de neutrófilos se puede ver afectada por la citotoxicidad viral sobre las células madre hematopoyéticas.

Duffy et al., en 2010 indican que la neutropenia se produce con frecuencia después de la infección por parvovirus canino y puede tener varias causas diferentes. Por ejemplo, el parvovirus canino tiene una predilección por las células que se dividen rápidamente, por lo que el grupo precursor de granulocitos en la médula ósea es un objetivo primordial para la destrucción. Además, la

pérdida de los neutrófilos puede ocurrir a través del daño del tracto gastrointestinal. Esto es probablemente lo que ocurrió con los pacientes de este estudio, ya que la neutropenia fue predominante en el segundo cuadro hemático del 60% de los pacientes del grupo control.

Un 40% de los pacientes del grupo control tuvieron incremento en los niveles de neutrófilos en el segundo cuadro hemático, lo cual puede deberse posiblemente a la recuperación, pues según Núñez y Bouda en 2007, cuando en el hemograma se observa recuperación en el número de polimorfonucleares, recuperación en el número de linfocitos y eosinófilos, se puede considerar que la inflamación ha sido controlada.

En este mismo grupo, la mayoría de los pacientes presentaron en el primer cuadro hemático linfocitos dentro de los rangos normales. En el segundo muestreo, la mayoría de pacientes permanecieron dentro del intervalo normal, tal como lo descrito por García en 2007, la afección del tejido linfóide y de las células mieloproliferativas de la médula ósea provoca linfopenia e incluso panleucopenia, sin embargo en este grupo, los pacientes no mostraron esa respuesta esperada a la enfermedad. La linfopenia puede darse por las lesiones en el timo como lo explican Goddard y Leisewitz en 2010. Estas lesiones suelen ser más evidentes en los centros germinales y la corteza del timo, lo que refleja el tropismo de CPV-2 para las poblaciones de células en mitosis. La linfocitosis extensa en la corteza tímica, en comparación con otros tejidos linfoides, además refleja el índice mitótico alto encontrado en este órgano, y no es por lo tanto sorprendente que los cachorros infectados desarrollen linfopenia severa.

En todo el tiempo en el cual se desarrolló este estudio murieron en total 4 pacientes, 2 de cada grupo de estudio. La muerte bajo la influencia de este virus se da sobre todo en cachorros muy jóvenes y ésta se atribuye a la deshidratación,



desequilibrio electrolítico, choque endotóxico o infección microbiana masiva asociada a leucopenia, como lo argumenta Aguilar en 2005; algunas de estas causas pudieron desencadenar la muerte de los pacientes de nuestro estudio, ya que a pesar de estar hospitalizados y bajo tratamiento, se desconoce hace cuanto estaban enfermos antes de ser traídos a la clínica, por lo que la supervivencia se hace más difícil de controlar.

La muerte de los caninos de este estudio puede estar influenciada a su vez por los bajos títulos de anticuerpos que posiblemente tenían los cachorros, ya que según Cavalli et al., en 2008 se espera que los anticuerpos vacunales y maternos estén presentes en animales jóvenes, lo que al parecer no ocurrió en los pacientes de este estudio, ya que los caninos no tienen historia de vacunación. De Cramer et al., en 2011, indican que la vacunación a las 4 semanas de edad en cachorros con altos niveles de anticuerpos derivados de la madre, pueden conducir a una reducción en la ventana de susceptibilidad con respecto a la infección por CPV-2.

Utilizando el método estadístico no paramétrico Kruskal wallis, se encontró que no existieron diferencias significativas estadísticamente hablando ( $p > 0.05$ ) entre los dos grupos en cuanto a los leucocitos. En cuanto a parámetros diferenciales de la línea blanca, como los neutrófilos, linfocitos y monocitos no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ).

## Resultados de signos clínicos

### Actitud

En la Tabla 5, se muestran los promedios resultantes de la evaluación de la actitud entre el grupo control y el grupo tratamiento.

En promedio los pacientes del grupo control presentaron una mejor actitud, con un puntaje

**Tabla 5.** Promedios para la actitud de ambos grupos

| Pacientes  | Experimental | Control |
|------------|--------------|---------|
| Paciente 1 | 12           | 10      |
| Paciente 2 | 13           | 8,3     |
| Paciente 3 | *22,5        | 8,3     |
| Paciente 4 | 8            | *20     |
| Paciente 5 | *18          | *17     |
| Total      | 73.5         | 63.6    |

\* Pacientes con mayor puntaje

total de 63.6, en comparación con el grupo experimental, quienes obtuvieron un puntaje total de 73.5, a menor puntaje la actitud se aproxima más hacia la normalidad, a mayor puntaje la aproximación es hacia la depresión y en último caso el shock.

El paciente 4 del grupo experimental tuvo el puntaje más bajo de los 10 animales, presentando una mejor actitud durante el tratamiento. El paciente 4 del grupo control murió presentando el segundo puntaje más alto de todo el estudio.

Lo anterior concuerda con los signos clínicos característicos de la parvovirus canina, entre los cuales se encuentra la depresión y pérdida de apetito, causada por los demás signos clínicos típicos como el vómito y la diarrea que puede ser mucosa o hemorrágica (Decaro et al., 2005a, 2005b; de Castro et al., 2007; Hu et al., 2011).

### Apetito

En la Tabla 6, se muestran los promedios resultantes de la evaluación del apetito entre el grupo control y el grupo experimental.

**Tabla 6.** Promedios de puntaje para el apetito de ambos grupos.

| Pacientes  | Experimental | Control |
|------------|--------------|---------|
| Paciente 1 | 18           | 28      |
| Paciente 2 | 21           | 26,6    |
| Paciente 3 | *17,5        | 16,6    |
| Paciente 4 | 26           | *30     |
| Paciente 5 | *30          | *25,7   |
| Total      | 112.5        | 126.9   |

\* Pacientes con mayor puntaje

A pesar de no existir diferencias significativas entre los grupos, la sumatoria demostró que el grupo tratado con polipéptidos (112.5 puntos) presentó un mejor apetito en comparación con el puntaje del grupo control (126.9 puntos). Esto concuerda con lo reportado por van't Veen et al., en 1996, quienes han evidenciado que el suministro de péptidos linforeticulares incrementan el apetito.

### Vómito

En la Tabla 7, se muestran los puntajes resultantes de la evaluación del vómito entre el grupo control y el grupo experimental.

**Tabla 7.** Promedios para el vómito de ambos grupos.

| Pacientes  | Experimental | Control |
|------------|--------------|---------|
| Paciente 1 | 8            | 6       |
| Paciente 2 | 9            | 6,6     |
| Paciente 3 | *12,5        | 11,6    |
| Paciente 4 | 6            | *16     |
| Paciente 5 | *20          | *17,1   |
| Total      | 55.5         | 57.3    |

\* Pacientes con mayor puntaje

Los pacientes pertenecientes al grupo experimental presentan un total de 55.5 puntos, mientras que los del grupo control 57.3 puntos, lo cual sugiere que aunque la diferencia no es muy notoria, los pacientes tratados con polipéptidos presentaron vómito más leve, a pesar de no ser considerado como un producto con propiedades antieméticas.

### Heces

En la Tabla 8, se muestran los puntajes resultantes de la evaluación de la presentación de diarrea entre el grupo control y el grupo experimental.

**Tabla 8.** Promedios para las heces de ambos grupos.

| Pacientes  | Experimental | Control |
|------------|--------------|---------|
| Paciente 1 | 21           | 10      |
| Paciente 2 | 15           | 16,6    |
| Paciente 3 | *27,5        | 8,3     |
| Paciente 4 | 18           | *30     |
| Paciente 5 | *26          | *11     |
| Total      | 107.5        | 75.9    |

\* Pacientes con mayor puntaje

En cuanto a la diarrea, el grupo control presentó 75.9 puntos, menor que el del grupo experimental (107.5 puntos), evidenciando que en el grupo experimental con el paso de los días la diarrea se mantenía.

Los resultados obtenidos en el estudio no mostraron diferencias significativas en cuanto a la evolución de los signos clínicos entre el grupo control y el experimental, lo cual no concuerda con lo reportado por van't Veen et al., en 1996, quien ha evidenciado que los péptidos linforeticulares, incrementan el peso corporal y bienestar de los pacientes tratados, aunque no



tiene un efecto antidiarreico. Van't Veen et al., en 1996, también afirman que los polipéptidos linforeticulares aumentan el apetito, efecto que se manifestó levemente en el grupo tratamiento. De igual manera, el apetito se ve afectado por los episodios de vómito y afección gastrointestinal que sufren los pacientes con parvovirus como lo describen García en 2007, Pérez et al., 2007 y Nwoha en 2011, entre otros.

Es importante tener en cuenta que los efectos positivos de los polipéptidos linforeticulares han sido ampliamente probados en humanos en diversas patologías (Mejía 2007, 2010, 2014 y Mejía et al., 2003, 2011) y en animales (Acero et al., 2011, Pérez et al., 2012), sin embargo, posiblemente por el tamaño de la muestra y las variables externas, los resultados no son concluyentes. A pesar de este fenómeno, el efecto de los polipéptidos linforeticulares han demostrado ser coadyuvantes en diversas patologías animales en estudios aún no publicados y en ensayos de campo en aves (enfermedad de gumboro), bovinos, equinos (problemas respiratorios) y caninos con parvovirus.

## ■ Conclusiones

A nivel de la línea roja y línea blanca en los cuadros hemáticos tanto del grupo control como del grupo experimental, en términos generales los pacientes no presentaron cambios ni diferencias significativas que puedan sugerir un efecto causado por el tratamiento con polipéptidos linforeticulares, posiblemente debido al tamaño y a los sesgos de la muestra.

El uso de polipéptidos linforeticulares (Uprone®) no mostró efectos secundarios en los pacientes a los cuales les fue suministrado, aunque existieron cambios generados en las células blancas que no fueron significativos en este estudio, sin embargo, otros estudios en animales, con diferentes tamaños de muestra, evidencian las

ventajas de estos péptidos como coadyuvante en algunas patologías.

En cuanto a los signos clínicos, no se evidenciaron diferencias significativas entre los pacientes del grupo experimental y el grupo control.

## ■ Agradecimientos

A laboratorios URBIMED S.A.S. por el apoyo con el suministro del medicamento. A la clínica veterinaria de Funza, Cundinamarca por permitirnos realizar el estudio en sus instalaciones. Este trabajo se publica en homenaje al Dr. Guillermo Mejía Mejía (Q.E.P.D.).

## ■ Referencias

Acero, V., Cristancho, C., García, N., Góngora, J., Gómez, V., Estupiñán, V., Ballén, L., Duran, L., Godoy, N., Bautista, R., Mejía, G. (2011). Efecto de polipéptidos linforeticulares (Uprone®) en varias especies animales: estudio preliminar. Memorias XLVI Congreso Nacional de Ciencias Biológicas. Medellín-Colombia, 11 al 15 de octubre de 2011.

Aguilar, A. (2005). Diagnóstico diferencial de las gastroenteritis hemorrágicas en perros. Monografía para obtener el título de Licenciado en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Veracruzana. Veracruz, México.

Ardila, S., Chaki, J., Martínez, L., Méndez, N., Mejía, G., Soler, D., Mayor, G., Jiménez, D. L., Acero, V. (2010). Efecto de los polipéptidos linforeticulares en los valores hemáticos en un grupo de caninos sanos en Bogotá, Colombia. Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas, 22: 1-235.

- Ariza, S., Fuentes, D., Vera, V., Villamil, Ramírez, G. (2005). Aglutinación en látex, Elisa y hemoaglutinación: alternativas para el diagnóstico de la Parvovirus canina en heces. *Rev. Med. Vet. Zoot.*, 52:5-11.
- Barr, C. (1998). Aspectos clínicos de la enteritis viral canina. Nuevas aproximaciones. En: *Proceedings of XXIII Congress of the World Small Animal Veterinary Association*, California, USA. Octubre de 1998. p. 35 -37.
- Bird, L., Tappin, S. (2013). Canine parvovirus: where are we in the 21st Century?. *Companion animal*, 18(4): 142-146
- Bragg, R., Duffy, A., DeCecco, F., Chung, D., Green, M. Veir, J., Dow, S. (2012). Clinical evaluation of a single dose of immune plasma for treatment of canine parvovirus infection. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 240(6):700-704.
- Calderón, M., Mattion, N., Bucafusco, D., Fogel, F., Remorini, P., La Torre, J. (2009). Molecular characterization of canine parvovirus strains in Argentina: Detection of the pathogenic variant CPV2c in vaccinated dogs. *Journal of Virological Methods*, 159(2):141-145.
- Calderon, M., Romanutti, C., D'Antuono, A., Keller, L., Mattion, N., La Torre, J. (2011). Evolution of Canine Parvovirus in Argentina between years 2003 and 2010: CPV2c has become the predominant variant affecting the domestic dog population. *Virus Research*, 157(1):106-110.
- Cavalli, A., Martella, V., Desario, C., Camero, M., Bellacicco, A. L., De Palo, P., Decaro, N., Elia, G., Buonavoglia, C. (2008). Evaluation of the Antigenic Relationships among Canine Parvovirus Type 2 Variants. *Clinical and Vaccine Immunology*, 15(3):534-539.
- Cotter, S. (2001). *Hematology*. United States: Teton New Media.
- de Castro, T., Uchoa, C., de Albuquerque, M., Labarthe, N., Garcia, R. (2007). Canine Parvovirus (CPV) and Intestinal Parasites: Laboratorial Diagnosis and Clinical Signs from Puppies with Gastroenteritis. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 5(2):72-76.
- De Cramer, K., Stylianides, E., van Vuuren, M. (2011). Efficacy of vaccination at 4 and 6 weeks in the control of canine parvovirus. *Veterinary Microbiology*, 149(1-2):126-132.
- De Ojeda, G., Diez-Orejas, R., Portolés, P., Ronda, M., Del Pozo, M., Feito, M., Hartleb, M., Rojo, J. (1994). Polyerga, a biological response modifier enhancing T-lymphocyte-dependent responses. *Research in Experimental Medicine (Berl)*, 194(4):261-267.
- Decaro, N., Desario, G., 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. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17(2):133-138.
- Decaro, N., Buonavoglia, C. (2012). Canine parvovirus—a review of epidemiological and diagnostic aspects with emphasis on type 2c. *Veterinary Microbiology*, 155(1):1-12.
- Decaro, N., Elia, G., Martella, V., Desario, C., Campolo, M., Trani, L., Tarsitano, E., Tempesta, M., Buonavoglia, C. (2005). A real-time PCR assay for rapid detection and quantitation of canine parvovirus type 2 in the feces of dogs. *Veterinary Microbiology*, 105(1)19-28.
- Dudley, L. (1998). Inmunología de la enteritis viral canina. Nuevas aproximaciones. En: *Proceedings of XXIII Congress of the World Small Animal Veterinary Association*, California. p. 43-45.



- Duffy, A., Dow, S., Ogilvie, G., Rao, S., Hackett, T. (2010). Hematologic improvement in dogs with parvovirus infection treated with recombinant canine granulocyte-colony stimulating factor. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 33(4):352-356.
- Flores, R. (1987). Parvovirus canina y aspectos de inmunización. *Ciencia Veterinaria*, 4: 131-159.
- García, I. (2007). Manejo clínico de la parvovirus canina en urgencias. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 1(2):510-516.
- Goddard, A., Leisewitz, A. (2010). Canine Parvovirus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40(6):1041-1053.
- Hoskins, D. J. (2000). Enfermedades infecciosas en perros y gatos. México: Mac-Graw-Hill-Interamericana.
- Hu, J., Zhang, X., Han, S., Zhao, J., Tian, Z. (2011). A survey of diagnosis and treatment of pet Canine Parvovirus disease in China. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(16):2058-2060
- Kogika, M., Pereira, D., Elias, F., Notomi, M., Delayte, H., Kawahara, R., Hagiwara, M. (2003). Determinação sérica de haptoglobina, ceruloplasmina e glicoproteína ácida em cães com gastroenterite hemorrágica. *Ciencia Rural*, 33:513-517.
- Martin, V., Najbar, W., Gueguen, S., Grousson, D., Eun, H., Lebreux, B., Aubert, A. (2002). Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled challenge trial. *Veterinary Microbiology*, 89(2-3):115-127.
- Mejía G., Minotta C., Hurtado H. (2003). Evaluación general sobre los efectos de un nuevo modificador de la respuesta biológica (BRM), en el curso clínico de diversas patologías. (EC FIII) C&D Pharma, Bogotá, Colombia. Trabajo presentado en el Segundo Foro Regional de Investigación Científica. Fundación Universitaria del Área Andina, Pereira, Risaralda, Sept. 26 – 27.
- Mejía, G. (2007). Aspectos Fisiológicos y Metabólicos de la Respuesta Inmune Primaria. Urbimed Laboratorios S.A.S. Obtenido de: <http://www.urbimedlab.com/>
- Mejía, G. (2010). El tratamiento de apoyo metabólico para el cáncer y otras patologías. Boletín #3. Urbimed Laboratorios S.A.S Colombia.
- Mejía, G. (2014). Secretos de un Alquimista. Edit. Ápice. Colombia. 145 p.
- Mejía, G. De Urbina, S. Mejía, N. Higuera, R. Acero, V. (2011). Valoración multicéntrica sobre el efecto terapéutico suplementario de los polipéptidos linforeticulares (L.M.W.) en el curso clínico de diversas patologías. Comunicación presentada en el XLVI Congreso Nacional de Ciencias Biológicas, Medellín, Colombia.
- Núñez, L. y Bouda, J. (2007). Patología clínica veterinaria. México D.F: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Nwoha, R. (2011). Parvoviral enteritis in a dog: case report and review of the literature. *Continental J. Veterinary Sciences*, 5(1):6-10.
- Pérez, R., Francia, L., Romero, V., Maya, L., López, I., Hernández, M. (2007). First detection of canine parvovirus type 2c in South America. *Veterinary Microbiology*, 124:147–152.
- Pérez, T. Contreras, R. Garavito, A. Fonseca, C. Acero, V. (2012). Evaluación del efecto de polipéptidos linforeticulares en un grupo



de bovinos en Nobsa, Boyacá, Colombia. Comunicación presentada en el XXIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias-PANVET, Cartagena de Indias, Colombia.

Savigny, M., Macintire, D. (2010). Use of Oseltamivir in the treatment of canine parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20(1):132–142.

Sherding, G., Birchard, S. (1994). Manual clínico de pequeñas especies. México: Mac-Graw-Hill Interamericana.

Sosa, K.A. (2009). Estudio de la diversidad del parvovirus canino tipo (CPV-2) mediante el análisis de repetidos en el genoma viral. Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad de La República. Montevideo, Uruguay.

Truyen, U. (2006). Evolution of canine parvovirus—A need for new vaccines?. *Veterinary Microbiology*, 117(1):9–13.

Van't Veen, A., de Ruyter, H., Mouton, J., Hartleb, M., Lachmann, B. (1996). Pretreatment with spleen peptides can enhance survival in influenza A infected mice. *Forsch Komplementärmed*, 3, 218-221.

Villiers, E., Blackwood, L. (2009). Manual de diagnóstico de laboratorio en pequeños animales. Barcelona: Ediciones S.

Xinhua, X., Shan, H. y Mingqian, L. (1998). The effect of Polyerga in combined with repeated chemotherapy of recurrent non-Hodgkin's lymphoma. *Chinese Journal of Clinical Oncology*. 5:78-79

Zuluaga, T., Contreras, R., Garavito, A., Fonseca, C., Acero, V. (2012). Evaluación del efecto de polipéptidos linforeticulares en un grupo de bovinos en Nobsa, Boyacá, Colombia. Memorias "XXIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias (PANVET)", Cartagena de Indias, Octubre 2012.